

TARTU ÜLIKOOL
LOODUS- JA TÄPPISTEADUSTE VALDKOND
MOLEKULAAR- JA RAKUBIOLOOGIA INSTITUUT

ja

MEDITSIINI TEADUSTE VALDKOND
BIO- JA SIIRDEMEDITSIINI INSTITUUT

Kristine Roos

Gestatsioondiabeet sisaldab endas vähemalt kahte tüüpi haigust – autoimmuunset ning insuliinresistentsusel põhinevat diabeeti

Magistritöö

40 EAP

Juhendajad: Kadri Haller-Kikkatalo, MD, PhD

Prof. Andres Metspalu, MD, PhD

TARTU 2016

INFOLEHT

Lühikokkuvõte

Sissejuhatus: Gestatsioonidiabeet (GDM) on rasedusaegne suhkru ainevahetuse häire, mis taandub pärast sünnitamist. See mõjutab kuni 14% kõikidest rasedusjuhtudest ning on ebasoodsa mõjuga nii emale kui tema vastsündinud lapsele. Uusim teaduskirjandus lubab arvata, et GDM on heterogeenne haigus ning praegused diagnoosikriteeriumid ei erista GDMi põhjuseid ega tuvasta kõiki hilisema diabeedi riskiga rasedaid naisi. Töö eesmärgiks oli analüüsida seda hüpoteesi.

Materjal ja meetodid: Töös kasutati 250 üksikrasedusega naise anamnestilisi ja kliinilisi andmeid ning määrati vereseerumist immuunsüsteemi markereid ensüümikaudsel immunosorptsiooni- ja analoogsel meetodil ning kaudsel immunofluorestsentsmeetodil. Andmed analüüsiti kohandatud regressioonmudelite abil kasutades R keelt ja keskkonda.

Tulemused ja järeldused: GDMi võib jaotada vähemalt kaheks alagrupiks: autoimmuunseks ja insuliinresistentsusel põhinevaks GDMiks. Need eristuvad teineteisest immuunsüsteemi põletiku markerite ning raseda naise tervisenäitajate poolest nagu rasedusaegne kaaluiive, vererõhu väärtused enne ja pärast sünnitust. Lisaks võimaldab GDM alagruppide eristamine ja immuunsüsteemi markerite hindamine prognoosida raseda naise sünnitusjärgsesse diabeeti haigestumise tõenäosust. Oluline on märkida, et nimetatud GDMi alagruppe on võimalik eristada igapäeva kliinilises praktikas kasutusel olevate laboratoorsete testide alusel: vereseerumis leiduvate diabeedi autoantikehade, triglütseriidide, C-peptiidi ja veresuhkru tasemete alusel.

Märksõnad: autoimmuunne gestatsioonidiabeet, insuliinresistentsuse gestatsioonidiabeet, diagnoosikriteeriumid, autoantikehad, tsütokiinid

Abstract

Introduction: Gestational Diabetes Mellitus (GDM) is a gestational disorder of carbohydrate metabolism during pregnancy that disappears after giving birth. It affects up to 14% of all pregnancies and has undesirable effects on both the mother and the newborn. Current literature suggests that GDM is a heterogeneous disease and that current diagnostic criteria do not specify pathogenic background of diabetes or identifies all pregnant women with the risk of diabetes later in life. The aim of this work was to analyze this hypothesis.

Material and Methods: The anamnestic and clinical data from gravidas with 250 singleton pregnancies were used for this study. Autoantibodies and cytokines were detected by utilizing enzyme-linked immunosorbent assay and its analogues and indirect immunofluorescence. Data were analysed with adjusted regression models by using the R language and environment.

Results and Conclusions: GDM includes at least two subgroups: autoimmune and insulin resistance-based GDM. Mentioned groups differ by clinical signs, including weight gain during pregnancy and the measure of blood pressure during and after pregnancy, but also cytokine profile. In addition, distinguishing GDM subgroups and detecting autoantibodies predicts the chance for maternal diabetes later in life. Importantly, the subgroups of GDM can today be performed by utilizing laboratory tests available for everyday clinical practice – the presence of diabetes autoantibodies in serum, the level of triglycerides, C-peptide and glucose.

Keywords: autoimmune gestational diabetes mellitus, insulin resistance gestational diabetes mellitus, diagnostic criteria, autoantibodies, cytokines

SISUKORD

INFOLEHT.....	2
KASUTATUD LÜHENDID	6
SISSEJUHATUS	8
1 KIRJANDUSE ÜLEVAADE.....	9
1.1 Gestatsioondiabeet ja selle diagnoosimine	9
1.2 Gestatsioondiabeedi iseloomustus	11
1.3 Teist tüüpi diabeedile sarnanev gestatsioondiabeet ehk IR-GDM.....	11
1.4 Pankrease spetsiifilise autoimmuunsusega kaasnev GDM ehk AI-GDM	13
1.4.1 65 kDa-lise glutaamhappe dekarboksüolaasi vastased autoantikehad	15
1.4.2 ZnT8 vastased autoantikehad	16
1.4.3 Pankrease saarekeste tsütoplasma vastased tsirkuleerivad autoantikehad	17
1.4.4 Insulinoomiga seotud valk 2 vastased autoantikehad.....	17
1.4.5 Türeoid peroksüdaasi vastased autoantikehad.....	17
1.5 Tsütokiinide iseloomustused grupiti	18
1.5.1 Adipokiinid.....	19
1.5.2 Põletiku regulatsiooniga seotud tsütokiinid.....	20
1.5.3 Omandatud immuunvastuse tsütokiinid	21
1.5.4 Kemokiinid	21
1.5.5 Peamiselt hematopoeesi stimuleerivad tsütokiinid.....	22
1.6 Tsütokiinide roll raseduses ja diabeedi kujunemisel	22
1.7 Rasedus ja sünnitusjärgne periood gestatsioondiabeedi korral.....	24
1.7.1 Gestatsioondiabeedi tuvastamine ja võimalikud ravimeetodid	25
2 TÖÖ EESMÄRK.....	26
3 MATERJAL JA METOODIKA.....	27
3.1 Valim ja uuringumaterjal	27
3.2 Autoantikehade määramine ELISA meetodiga	31
3.3 Kaudse immunofluorestsentsmeetodiga ICA määramine.....	32
3.4 Anti-TPO IgG tüübi määramine uuritavate vereseerumist Immunocap Specific IgG meetodiga	34
3.5 Tsütokiinide määramine	35
3.6 Statistiline analüüs	36
4 TULEMUSED	37

4.1	Kliinilise gestatsioondiabeediga uuritavate kirjeldus	37
4.2	Gestatsioondiabeedi riskitegurite analüüs	37
4.3	Autoantikehade esinemine uuritavatel	38
4.4	Gestatsioondiabeedi alagruppide kirjeldus	38
4.5	Immuunsüsteemi markerite võrdlus AI-GDM, IR-GDM ja võrdlusgrupi vahel	45
4.5.1	Adipokiinid	45
4.5.2	Põletikureaktsioone reguleerivad tsütokiinid	57
4.5.3	Muud tsütokiinid	58
5	ARUTELU	59
6	JÄRELDUSED	66
7	KOKKUVÕTE	67
	TÄNUAVALDUSED	70
	KASUTATUD KIRJANDUS	71
	LISA 1. Lihtlitsents	86

KASUTATUD LÜHENDID

anti-TPO	- türeoid peroksüdaasi vastased autoantikehad (ingl <i>thyroid peroxidase autoantibodies</i>)
anti-ZnT8	- tsingi transporter 8 vastased autoantikehad (ingl <i>zinc transporter 8 autoantibodies</i>)
CRV	- C-reaktiivne ägeda faasi valk (ingl <i>C-reactive protein</i>)
EDTA	- etüleendiamiintetraädikhape
ELISA	- ensüümikaudne immunosorptsioonimeetod (ingl <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>)
FITC	- fluorestseiniisotiotsüanaat (ingl <i>fluorescein isothiocyanate</i>)
GABA	- gamma aminovõihape
GAD	- glutamaat dekarboksülaas
GADA	- glutaamhappe dekarboksülaasi 65 vastased autoantikehad
GDM	- gestatsioondiabeet (ingl <i>gestational diabetes mellitus</i>)
GM-CSF	- granulotsüüdi-monotsüüdi kolooniat stimuleeriv faktor (ingl <i>granulocyte-colony stimulating factor</i>)
HDL	- suure tihedusega lipoproteiin (ingl <i>high density lipoprotein</i>)
HLA	- inimese leukotsüüdi antigeen (ingl <i>human leukocyte antigen</i>)
HRP	- mädarõika peroksüdaas
IA-2A	- insulinoomiga seotud valk 2 vastased autoantikehad (ingl <i>insulinoma-associated protein 2 autoantibodies</i>)
ICA	- pankrease saarekeste tsütoplasma vastased tsirkuleerivad autoantikehad (ingl <i>islet cell cytoplasmatic circulating antibodies</i>)
IFN- γ	- interferoongamma (ingl <i>interferon-gamma</i>)
Ig	- immunoglobuliin
IL	- interleukiin (ingl <i>interleukin</i>)
IP-10	- interferoongamma indutseeritud proteiin 10 (ingl <i>interferon-gamma induced protein 10</i>)
IR	- insuliinresistentsus
kDa	- molekuli mass daltonites, kilodaltonites
KMI	- kehamassiindeks
LADA	- täiskasvanu eas arenev autoimmuunne diabeet (ingl <i>latent autoimmune diabetes in adults</i>)
LDL	- väikese tihedusega lipoproteiin (ingl <i>low density lipoprotein</i>)
MCP-1	- monotsüütide kemoatraktant proteiin 1 (ingl <i>monocyte chemoattractant protein 1</i>)
MHC	- peamine koosobivuskompleks (ingl <i>major histocompatibility complex</i>)

MIP-1 β	- makrofaagide põletiku proteiin 1 β (ingl <i>macrophage inflammatory protein 1β</i>)
NK	- loomulik tapjarakk (ingl <i>natural killer cell</i>)
OD	- optiline tihedus
OR	- šansside suhe (ingl <i>odds ratio</i>)
PAI-1	- plasminogeeni aktivaatori inhibiitori tüüp 1 (ingl <i>plasminogen activator inhibitor type I</i>)
PBS	- fosfaatpuhverdatud soolalahus
rpm	- pööret minutis
sIL-1RI	- lahustuva interleukiin-1 I tüüpi retseptor (ingl <i>soluble interleukin 1 receptor type I</i>)
sIL-2R α	- lahustuva interleukiin-2 retseptori α alaühik (ingl <i>soluble interleukin 2 receptor type II alpha subtype</i>)
sTNF RII	- lahustuva tuumor-nekroosi faktor α II tüüpi retseptor (ingl <i>soluble tumor necrosis factor receptor type II</i>)
T1D	- 1. tüüpi diabeet (ingl <i>type 1 diabetes</i>)
T2D	- 2. tüüpi diabeet (ingl <i>type 2 diabetes</i>)
TGF- β	- transformeeriv kasvufaktor β (ingl <i>transforming growth factor β</i>)
Th	- abistaja T-lümfotsüüt (ingl <i>T helper cells</i>)
TNF- α	- tuumor-nekroosi faktor α (ingl <i>tumor necrosis factor α</i>)

SISSEJUHATUS

Gestatsioondiabeet (GDM) on süsivesikute ainevahetuse häire, mis tekib gestatsiooni ajal ning taandub selle järgselt. See esineb kuni 14% rasedusjuhtudest ning prognoositakse, et elanikkonna rasvumise suurenemise tulemusena tõuseb ka GDMi esinemissagedus.

GDMi teket kujundavad põletikulised protsessid, rasvumine, pankrease vastu suunatud autoreaktiivsuse esinemine, geneetiline soodumus diabeedi tekkele ning selle avaldumist võimendavad keskkonnategurid. Rasedusega kaasnevad metaboolsed ja hormonaalsed muutused võivad eelpool nimetatud eelsoodumuse korral algatada pankrease vastase autoimmuunsuse või võimendavad insuliinresistentsust sedavõrd, et kujuneb välja suhkruainevahetushäire ehk GDM. Tuleb märkida, et siiani ei kontrollita kõiki rasedaid naisi GDMi suhtes ilma, et rasedal oleks selleks kliinilisi riskifaktoreid ning olemasolevad diagnoosikriteeriumid on suunatud suhkruainevahetuse tuvastamiseks raseduse ajal ega täpsusta diabeedi tekkemehhanisme.

GDM on seotud tõsiste rasedusaegsete ja sünnitusjärgsete komplikatsioonidega, väljendudes näiteks preeklampsia esinemisega emal või makrosoomse lapse sünnina. Lisaks on GDM oluliseks riskifaktoriks 1. ja 2. tüüpi diabeedi tekkele nii emale kui ka tema vastsündinule hilisemas elus.

Kirjanduse andmetel on alust arvata, et lisaks hilisema 1. ja 2. tüüpi diabeedi riskiga naiste tuvastamisele sisaldab juba rasedusaegne diabeet ehk GDM endas vastavalt autoimmuunset ja insuliinresistentsusel baseeruvat diabeeti. Nimetatud GDM alagrupid omavad erinevat mõju rasedusele ja on seotud erineva diabeedi haigestumisriskiga hilisemas elus. Lähtudes eelnevast oli antud magistritöö eesmärgiks leida need parameetrid, mille alusel oleks võimalik tuvastada võimalikud GDM alagrupid ning neid iseloomustada.

Käesolev uuring viidi läbi Tartu Ülikooli meditsiini teaduste valdkonna Bio- ja Siirdemeditsiini instituudi Immunoloogia osakonnas.

1 KIRJANDUSE ÜLEVAADE

1.1 Gestatsioondiabeet ja selle diagnoosimine

Gestatsioondiabeet (ingl *Gestational Diabetes Mellitus*, GDM) on glükoosi ainevahetuse häire, mis tekib või tuvastatakse naise raseduse ajal (Association, 2010). Tavaliselt avaldub see gestatsiooni II trimestril (24.-28. gestatsiooninädalal) ning taandub pärast rasedust. Rasedusaegsetest metaboolsetest häiretest on see sagedaseim ning selle esinemine on mõjutatud naise geneetilisest eelsoodumusest diabeedi tekkele ja selle avaldumist mõjutavatest keskkonna faktoritest (Freinkel *et al.*, 1985). GDM tekkega on seostatud järgmisi insuliinresistentsusele (IR) viitavaid tunnuseid: raseduseelne ülekaal, polütsüstiliste munasarjade sündroom, diabeedi esinemine esimese astme sugulastel, teadmata põhjusega lootesurm, GDMi esinemine eelmise raseduse ajal või eelmise lapse makrosoomia (Vaas *et al.*, 2011).

2015. aastal moodustas hüperglükeemiaga kulgevate raseduste osakaal 16,2% kõikidest elussündidest ülemaailmselt ning GDMi juhtudeks peeti neist vähemalt 85% (Guariguata *et al.*, 2014; Internation Diabetes Federation, 2015). Üks sünd seitsmest on mõjutatud GDMi esinemisest emal (Internation Diabetes Federation, 2015). GDMi esinemissageduseks loetakse alates 14% valgetel kuni 30 ja enama protsendini Aasia päritolu naiste hulgas (Gunton *et al.*, 2001). Rootsis on tuvastatud GDMi vaid kuni 1% kõikidest rasedustest (Snehag *et al.*, 1991).

GDMi kindlaksmääramine ning sageduse hindamine on piirkonniti väga erinev: see sõltub vaadeldud populatsioonist, kasutatava sõeltesti meetodist ning diagnoosikriteeriumitest (Ben-Haroush *et al.*, 2004). GDMi tuvastamiseks teostatakse rasedal naisel glükoosi taluvuse proov (GTT). Selleks mõõdetakse raseda vereplasma glükoosiväärtust paastuseerumis ning 1 ja 2 tunni möödudes glükoosi suukaudse provokatsiooni järgselt. GDMi diagnoositakse, kui vähemalt üks GTT veresuhkru väärtus ületab referentsväärtuse (**Tabel 1**) (Internation Diabetes Federation, 2015). Kuni 2006. aastani oli Eestis kliinilises praktikas kasutusel standard, mille kohaselt GDMi diagnoositi vähemalt kahe GTT positiivse tulemuse alusel (Zupping *et al.*, 2006), mistõttu ei ole enne 2006. aastat tehtud haiguse sagedushinnangud võrreldavad ajaga pärast seda.

Tabel 1. Glükoosi taluvuse testi skeem rasedatele naistele gestatsioondiabeedi diagnoosimiseks. (SA Tartu Ülikooli Kliinikum, 2012, autori kohandused).

	Suukaudselt manustatav glükoosi kogus	Vereseerumi glükoosi tase tervetel mitte rasedatel	Gestatsioondiabeedi diagnoos
Paastuglükoos	0 g	≤ 6 mmol/L	$> 5,1$ mmol/L
1-tunni glükoosi taluvuse test	75 g		$> 10,0$ mmol/L
2-tunni glükoosi taluvuse test	75 g	$< 7,8$ mmol/L	$> 8,7$ mmol/L

Reproduktiivses eas noori enamasti ei testita rutiinselt diabeedi esinemise suhtes ja sama kehtib ka kõikide rasedate skriinimise kohta GDM suhtes (Ferrara, 2007). Paljudes riikides, sealhulgas ka Eestis, suunatakse rase naine GTT testile vaid siis, kui ta kuulub GDM riskigruppi. Eestis on GTT teostuse näidustuseks kasutusel järgmised GDMi riskifaktorid:

1. ülekaalulisus, kui KMI (kehamassiindeks) oli > 25 kg/m²
2. suguvõsas esines suhkruhaigust esimese põlvkonna sugulaste hulgas (ema, isa, õde, vend)
3. anamneesis gestatsioondiabeet
4. anamneesis makrosoomne laps (sünnikaaluga 4500 grammi ja enam),
anamneesis surnultsünd
5. käesoleva raseduse ajal glükosuuria või kõrgenenud veresuhkru tase juhuleiuna
6. käesoleva raseduse ajal polühüdramnion
7. raseduse teises pooles ultraheliuuringuga leitud keskmisest suurem ($>2SD$) loote kasv
8. patsiendi vanus 40 aastat või rohkem

Nimetatud juhtudel tehakse GTT-test raseduse II trimestril (Vaas *et al.*, 2011). GDMi suhtes jäävad kontrollimata riskigruppi mitte kuuluvad naised, eelkõige normaalse kehakaaluga rasedad (Lawlor, 2013). Lisaks rasedate selektiivsele testimisele GDMi suhtes, hinnatakse seda vaid lähtuvalt suhkruainevahetuse häire kliinilisest avaldumisest (**Tabel 1**). Viimati nimetatu tuvastamine raseduse II trimestril võimaldab leida need rasedad, kes käesoleva gestatsiooni ajal vajavad diabeedi ravi, kuid ei erista GDMi tekkepõhjusi ega patogeneesi mehhanisme. Sõltuvalt aga GDMi haiguse mehhanismist, erineb GDMi mõju rasedusele ja prognoos sünnitusjärgse diabeedi tekkele (Bartha *et al.*, 2001), mistõttu on oluline tulevase diabeedi riskiga rasedad selekteerida tervete rasedate naiste seast.

GDM ei ole veel üksüheselt kirjeldatud ning mõistetav. Häired suhkruainevahetuses moodustavad vaid ühe kõrvalekalde mitmete seast, mis soodustavad GDMi kujunemist ja kulgu. Olulist rolli omavad selle haiguse ilmnemisel ka rasvumise tase, põletiku ja kõhunäärme vastase autoimmuunsuse esinemine (Metzger *et al.*, 2007). See, mis järjekorras need sümptomid esinevad ja kas kõik üldse kujunevad, erinevad nii indiviiditi kui ka populatsiooniti (Association, 2010).

1.2 Gestatsioondiabeedi iseloomustus

GDM on oma olemuselt heterogeenne haigus, mille kulg ning tagajärjed sõltuvad rasedal naisel tekkinud IR tasemest, diabeediga seotud autoantikehade olemasolust ning diabeedi geneetilisest riskist kummagi diabeedi tüübi kasuks (Metzger *et al.*, 2007). Lisaks sellele soodustab GDMi väljakujunemist isiku toitumisharjumised ja vähene liikumine (Schoenaker *et al.*, 2016). Viimase aja teaduskirjandus lubab GDMi grupeerida vähemalt kaheks erinevaks diabeedi grupiks: 1) suhkruainevahetushäire koos autoreaktiivsusega pankrease beetarakkude suhtes ja 2) suhkruainevahetushäire koos üha suureneva IR ja lipiidide ainevahetuslike häiretega (Haller-Kikkatalo ja Uiho, 2014). Neid oleks õige nimetada vastavalt autoimmuunseks (AI) GDMiks ja IR GDMiks. Lähtudes diabeediga seostuvate autoantikehade olemasolust, suhkruainevahetushäire olemasolust, C-peptiidi tasemest ja triglütseriidide tasemest veres moodustuvad AI-GDM, IR-GDM ja tervete rasedate naiste grupp. Nimetatud GDMi alagruppide esinemist saab lugeda varajaseks riskifaktoriks tulevasele 1. (T1D) või 2. tüüpi diabeedi (T2D) kujunemisele. Arvatakse, et AI- ja IR-GDMi osakaal kogu GDM patsientide hulgast peegeldab T1D ja T2D osakaalu elanikkonnas, mis ligikaudu on 1:10 (Association, 2010).

1.3 Teist tüüpi diabeedile sarnanev gestatsioondiabeet ehk IR-GDM

Ülemaailmseks terviseprobleemiks on saanud üha suurenev ülekaaluliste hulk rahvastikus ning rasvumine – just need on olulisimad riskitegurid T2D väljakujunemisele. Eesti rahvastiku reproduktiivses eas olevatest naistest on ligi pooled ülekaalulised (Eglit *et al.*, 2013). Prognoositakse, et 2040. aastaks põeb globaalses plaanis umbes 650 miljonit täiskasvanut T2D (Shaw *et al.*, 2010). Sellest juhtuvalt võib arvata, et ka GDMi esinemise sagedus kasvab elanikkonnas.

Eelkõige on IR-GDMi teke seostatud rasvumise, glükoosi tolerantsuse häire ja otseselt IRiga, mistõttu sarnaneb see suuresti T2D kuluga (Friedman *et al.*, 1999). Glükoosi homöostaas

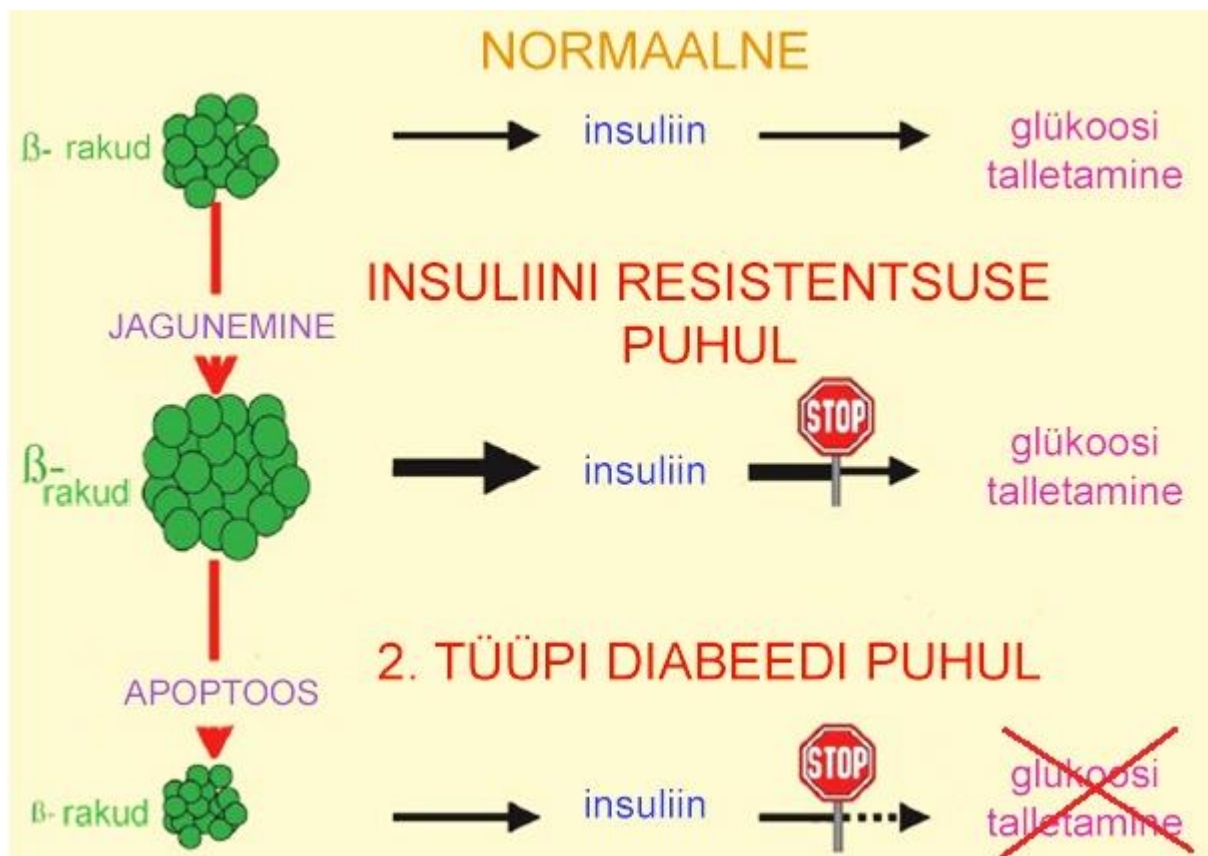
organismis tagatakse tasakaalu hoidmisega toitumise ning glükoosi omastamise vahel rasva- ja lihasrakkudesse (Layman *et al.*, 2003; Wood ja Trayhurn, 2003). Üleliigne glükoos salvestatakse ning vabastatakse rasva- ja maksarakkudest glükoneogeneesi teel. Seda reguleerib pankrease beetarakkude poolt toodetud insuliin, mille toime avaldub paljudele kudedele üle kogu organismi (Nussey ja Whitehead, 2001). Lisaks suhkruainevahetuse kontrollimisele reguleerib insuliin imetajate rakkude kasvu, jagunemist ja apoptoosi (Assmann *et al.*, 2009).

Parimaks väheinvasiivseks beetarakkude aktiivsuse hindamise ja sekreteeritud insuliini taseme määramise meetodiks peetakse C-peptiidi taseme mõõtmist vereplasmast (Polonsky *et al.*, 1986). Nimelt Langerhansi saarekeste beetarakkude sünteesitud proinsuliini jagunemisel moodustuvad insuliin ja C-peptiid (Rubenstein *et al.*, 1972).

Endokriinorganina on pankreas võimeline kohanema kasvava insuliini vajadusega ning IRiga, mis esineb rasvumise, raseduse, kasvuhormooni ja kortisooli ülekülluse korral. Sellisel puhul suureneb kõhunäärme funktsionaalsete beetarakkude hulk (Bonner-Weir, 2000). Ent kui nimetatud pankrease kompensatsioon aset ei leia, võib välja areneda diabeet (Kahn *et al.*, 2009).

Raseduse füsioloogias on IRil määrav tähtsus: see on vahend, millega suunatakse toitained läbi platsentaarbarjääri emalt looten. Raseduse kasvades suureneb järjest enam tulevase ema lihas- ja rasvarakkude resistentsus insuliini suhtes (Catalano *et al.*, 1999). On teada, et raseduse korral väheneb insuliinitundlikkus 50-70% võrra. Normaalse glükoosiainevahetuse korral pöördub see rasedusjärgselt tagasi (Kühl, 1998). GDMi korral on ema IR tase oluliselt suurem ja/või insuliini sekretsioon on ebapiisav kompenseerimaks tekkinud insuliinresistentsust, viies veresuhkru taseme tõusuni. Veresuhkru tõus ehk hüperglükeemia põhjustab omakorda pankreases progressiivset insuliini tootmise suurenemist, mis võib viia hüperinsulineemiani (**Joonis 1**). Hüperglükeemia koos hüperinsulineemiaga kahjustab kõhunäärme beetarakke, mille tulemusel väheneb pankrease insuliini tootmise võime ning kujuneb välja diabeet (Barbour *et al.*, 2007).

Raseduseaegne hüperglükeemia mõjutab loote normaalset arengut (Radaelli *et al.*, 2003). Ema hüperglükeemia võimaldab lootel kätte saada enam glükoosi, samas kui ema kõhunäärme poolt toodetud insuliin ei suuda läbida platsentaarbarjääri (Keller ja Krohmer, 1968). Loote hüperglükeemiast tingituna toodab loote enda pankreas pidevalt rohkem insuliini võrrelduna normoglükeemiaga. Selle tulemusena tekib ka lootel hüperinsulineemia, mille tingimustes ladestub enam rasva adipooskoesse ja kasvavad loote lihased (Anderson *et al.*, 2005) ehk kujuneb makrosoomia (Silverman *et al.*, 1995).



Joonis 1. T2D etapilist väljakujunemist illustreeriv joonis. Pankrease beetarakkude arvukusest sõltub toodetud insuliini hulk ning stoppmärk iseloomustab kasvavat insuliinivajadust ja see omakorda põhjustab muutusi beetarakkude funktsioneerimises ning glükoosi ainevahetuse näitajates (Donath et al., 2009, autori kohandused).

Rasedusaegsest IRst soodustatud kroonilise põletiku aktiivsuse tõus esineb nii rasvumise kui T2D korral (Radaelli et al., 2003). Neil juhtudel on kirjeldatud põletikuliste tsütokiinide, põletikumarkerite, sh. C-reaktiivse valgu (CRV) kõrgemat taset veres (Temelkova-Kurktschiev et al., 2002). Samuti ka on GDM diagnoosiga patsientide puhul põletikumarkerite väärtused oluliselt kõrgemad võrreldes tervete naistega, kuid siiski jäävad need madalamateks viirusinfektsiooni või teiste haiguste korral mõõdetud samadest näitajatest (Heitritter et al., 2005). Nimelt akuutse põletiku keskkonnas võib hepatotsüütide poolt toodetud CRV tase veres tõusta kuni tuhande kordseks (Gewurz et al., 1982). CRV võimendab teiste põletikutsütokiinide ja akuutse faasi valkude sünteesi, mis kauaaegsel kestvusel viib lõpuks nii südamehaiguste (Ridker et al., 2000) kui diabeedi tekkeni (Pradhan AD et al., 2001).

1.4 Pankrease spetsiifilise autoimmuunsusega kaasnev GDM ehk AI-GDM

Sarnaselt IR-GDMile ei ole praeguse ajani ei rahvusvahelises haiguste klassifikatsioonis (RHK-10) ega ka teaduskirjanduses üheselt kasutusele võetud mõistet AI-GDM. Nagu eespool kirjeldatud, on aga teadustulemusi, mis lubavad selliste haigete eristamist GDMi hulgast (Haller-Kikkatalo ja Uibo, 2014).

Siinkohal võiks AI-GDMi defineerida kui GDM, mille puhul on veres detekteeritav immuunsüsteemi autoreaktiivsus pankrease beetarakkude vastu. Kuna autoantikehade uuringuid rasedatel teostatakse harva, siis AI-GDMi kirjeldavaid uuringuid leidub vähe. Sarnaselt T1D geneetilisele eelsoodumusele seostatakse inimese leukotsüüdi antigeeni (ingl *human leukocyte antigen*, HLA) alleelide DR3 ja DR4 esinemist ka autoantikehade nagu pankrease Langerhansi saarekeste tsütoplasma vastased tsirkuleerivad IgG tüüpi autoantikehade (ICA) (Groop *et al.*, 1988), 65 kDa-lise glutaamhappe dekarboksülaasi vastaste erinevat tüüpi autoantikehade (GADA) ning insulinoomiga seotud valk 2 vastaste IgG tüüpi autoantikehade (IA-2A) (Vandewalle *et al.*, 1997) tootmisega raseduse ajal (Rubinstein *et al.*, 1981; Törn *et al.*, 2004).

T1Dle on iseloomulik kõhunäärme insuliini tootvate beetarakkude hävinemine, mis põhjustab insuliinipuudulikkust, millest omakorda tekib patsiendil hüperglükeemia. T1D kliiniline avaldumine toimub tavaliselt mitte enne, kui beetarakkudest on kahjustunud 60-80% (Notkins ja Lernmark, 2001). Enne haiguse kliinilist avaldumist võivad pankrease spetsiifilised autoantikehad olla vereseerumis määratavad kuid ja isegi aastaid varem (Verge *et al.*, 1996). T1D patogeneesi kohapealt need autoantikehad ilmselt olulist rolli ei mängi, kuna autoantikehad ei osale otseselt beetarakkude hävitamises ning T1D on eelkõige T-rakulise reaktsiooni poolt vahendatud haigus (Yoon ja Jun, 2005). Vaatamata sellele peetakse pankrease vastaste autoantikehade esinemist vereseerumis T1D spetsiifiliseks nii haiguse teket ennustavateks kui autoimmuunset diabeeti T2Dst eristavateks markeriteks (Leiva *et al.*, 2007).

Erinevalt AI-GDMi tekkest on raseduse ajal autoimmuunsed reaktsioonid reeglina vaigistatud (Haller-Kikkatalo ja Uiho, 2014). GDMi diagnoosiga naistel võivad esineda autoantikehad raseduse ajal või ilmuda alles pärast rasedust (Leiva *et al.*, 2007). Kui valdavalt korrigeeritakse IR-GDMi toitumise muutusega, siis autoantikehade esinemine GDM patsiendil on seotud insuliinravi lisamise vajadusega diabeedi raviskeemi viidates insuliini puudulikkusele neil haigeil (Yu *et al.*, 2009). Lisaks suurendab autoantikehade esinemine GDMi haigel riski hilisemaks T1Dks. Nimelt on leitud, et pankrease suhtes autoantikehade positiivsete leiuga rasedatel naistel areneb 50% T1D ühe aasta jooksul pärast sünnitust (Nilsson *et al.*, 2007). Üldiselt on T1D risk suurim kahel esimesel sünnitusjärgsel aastal peale GDM rasedust (Füchtenbusch *et al.*, 1997).

Enam uuritud pankrease vastased autoantikehad on: ICA, GADA, IA-2A ja tsingi transporter 8 vastased IgG tüüpi autoantikehad (anti-ZnT8). Raseduse 21. nädalast toimub ema IgG tüüpi antikehade ülekanne lootele, mille hulgas kantakse üle ka IgG tüüpi diabeedi autoantikehi (Pitcher-Wilmott *et al.*, 1980). Nimelt on leitud, et ema ICA, GADA ja IA-2A autoantikehade

tasemed korreleeruvad sünnihetkel lootel leiduvatega (Hämäläinen *et al.*, 2000). Näidatud on, et diabeediga emadelt lootele ülekantud ICAd ja GADAd elimineeritakse esimese 6-9 kuu jooksul pärast sünnihetke. Kui aga toimub nimetatud autoantikehade taseme tõus, siis see viitab lapse pankrease beetarakkude hävinemisele (Martikainen *et al.*, 1996). ICA ja GADA esinemine diabeeti mitte haigestunud emade vastsündinu nabanööri veres viitab T1D patogeneesi toimumisele emaülas. See põhjustab T1D väljakujunemist lapse hilisemas elus (Lindberg *et al.*, 1999).

1.4.1 65 kDa-lise glutaamhappe dekarboksülaasi vastased autoantikehad

L-glutamaathappe dekarboksülaas (GAD) on inhibeerivate omadustega ensüüm, mis katalüüsib virgatsaine gamma-aminovõihappe (GABA) sünteesi (Erlander *et al.*, 1991). GAD ja GABA toimivad mitmetes raku jaoks elutähtsates protsessides: signaalülekandes, raku jagunemises, metabolismis ning valgusünteesis (Kleppner ja Tobin, 2002).

GAD-65 on GAD valgu 65 kDa-ne isovorm, mis on 10. kromosoomi lühikeses õlas asuva *GAD2* geeni poolt kodeeritud 585-aminohappeline valguprodukt (Karlsen *et al.*, 1991). GADi ja GABAat leidub aju GABA-ergilistes närvirakkudes ja teistes organites nagu neerudes, maksas ja testistes (Tillakaratne *et al.*, 1995). GADi ja GABAat sisaldavad pankrease Langerhansi saarekeste beetarakkude sünaptilised vesiikulid (Reetz *et al.*, 1991). GADAd inhibeerivad ensüüm GADi aktiivsuse, mille tagajärjel häirub GABA süntees. GADA olemasolu seostatakse mitmete neuroloogiliste häirete tekkega (Vianello *et al.*, 2005): epilepsia, progresseeruva tserebellaarataksia, *Stiff Person* sündroomi ja entsefaliidiga (Giometto *et al.*, 1996; Malter *et al.*, 2010; Solimena *et al.*, 1988).

Lisaks eelnevatele peetakse GADA leidu vereseerumis oluliseks T1D riskimarkeriks ja diabeedi olemasolul biomarkeriks eristamaks T1D T2Dst (Baekkeskov *et al.*, 1990). Nimelt kuni 80% äsja avastatud T1D patsientidest (Pihoker *et al.*, 2005) omavad autoreaktiivsust GADi suhtes, kui T2D puhul esineb seda vaid 10% ulatuses (Niskanen *et al.*, 1995).

Erinevalt teistest diabeedi seoselistest autoantikehadest võib GADA esineda veres pikka aega ning nende autoantikehade hulk ja patsiendi vanus ei korreleeru omavahel. Seetõttu kasutatakse eelistatult GADA antikehade määramist täiskasvanu eas areneva autoimmuunse diabeedi (LADA) eristamiseks T2Dst (Vandewalle *et al.*, 1995). Neuroloogiliste sündroomide korral võib GADA tiiter vereseerumis olla kordades kõrgem kui T1D korral (Kim *et al.*, 1994).

1.4.2 ZnT8 vastased autoantikehad

Tsink transporter 8 (ZnT8) on pankrease beetaraku membraanis paiknev spetsiifiline transporter, mis funktsioneerib rakusiseses tsingiioonide tasakaalu säilitajana. Suurim tsingi kontsentratsioon on kõhunäärme beetarakkudes (Zalewski *et al.*, 1994). Tsink osaleb insuliini sünteesi, sekretsiooni ja hoiustamise protsessides, olles seetõttu olulisimaks metallühendiks insuliini sekreteerivates rakkudes (Chausmer, 1998). Insuliin on seotud heksameerina kahe tsingiiooni külge (Grant *et al.*, 1972) ning stiimuli mõjutusel, milleks enamasti on kõrge glükoosi tase veres, vabastatakse eksotsütoosi teel insuliin ja tsinkioonid rakusisesest vesiikulist ekstratsellulaarsesse maatriksisse (Qian *et al.*, 2000).

ZnT8 on kodeeritud 8. kromosoomis asuva geen *SLC30A8* poolt ja kuulub SLC30 perekonna valkude hulka. ZnT8 on imetajates kõrgelt konserveerunud 369 aminohappeline valk, mis koosneb kuuest membraaniläbivast domäänist ning histidiinirikkast rakusisesest helikaaside IV ja V vahelisest sõlmstruktuurist (Seve *et al.*, 2004). SLC30 perekonna valgud võimaldavad tsingi väljavoolu mööda bioloogilisi membraane rakust rakuvaheainesse või rakusisesesse vesiikulitesse (Qian *et al.*, 2000). Häired ZnT8 funktsioneerimisel põhjustavad patoloogilisi seisundeid, sh. insuliinipuudulikkust. Lähtuvalt ZnT8 toimest beetarakkudes seostatakse diabeedi teket ka tsingipuudulikkusega (Chausmer, 1998).

ZnT8 avaldub kõrgelt ka rasvakoe adipotsüütides, kus see reguleerib leptiini sekretsiooni ning soodustab vabade rasvhapete ja glükoosi vabastamist (Basuki *et al.*, 2007). Samuti ka ekspresseeritakse ZnT8 perifeersetes T- ja B-lümfotsüütides, mistõttu anti-ZnT8 mõjutavad lümfotsüütide aktiivsust ja omavad patoloogilist rolli paljudes autoimmuunsetes haigustes nagu näiteks türeoidiit ja T1D (Rogowicz-Frontczak *et al.*, 2014) või diabeedi tüsistuste tekkes (Haller-Kikkatalo *et al.*, 2015).

Anti-ZnT8 esinevad 18-30% täiskasvanute (Andersen *et al.*, 2013) ja kuni 70% laste vereseerumis äsja diagnoositud T1D puhul (Petruselkova *et al.*, 2014). T2D patsientidel on neid näidatud 2-10% juhtudest (Huang *et al.*, 2013; Trabucchi *et al.*, 2012).

Anti-ZnT8 vastaste autoantikehade määramine diabeetikute vereseerumist ei ole rutiinne ning testide standardiseerimine on alles välja töötamisel. Küll aga anti-ZnT8 olemasolu peetakse üha enam olulisemaks autoimmuunse diabeedi üksikmarkeriks (Achenbach *et al.*, 2009; Wenzlau *et al.*, 2007).

1.4.3 Pankrease saarekeste tsütoplasma vastased tsirkuleerivad autoantikehad

ICAd toodetakse kõhunäärme beetarakkude erinevate tsütoplasma antigeenide vastu. Nende autoantikehade levimusmääraks on täiskasvanutel kuni 60% (Littorin *et al.*, 1999) ja lastel kuni 90% T1D diagnoosi korral (Andersson *et al.*, 2014). GDMi puhul esinevad ICA vastased autoantikehad 1-38% rasedatel ning nende olemasolu peetakse üheks spetsiifilisemaks hilisema võimaliku T1D riskimarkeriks (Järvelä *et al.*, 2006). GDM korral on ICA tase madalam võrreldes mitterasedate T1D haigetega või nende esimese astme sugulastega (Riley *et al.*, 1990). Haiguse esinedes ICAd teke ja leidumine vereseerumis viitab varajasele insuliini vajalikkusele (Turner *et al.*, 1997).

Samas, ICAd määramist kaudse immunofluorestsentsi meetodil peetakse rohkem diagnoosi kinnitavaks analüüsiks kui seda määravaks. Võrreldes teiste autoantikehade testmeetoditega ei ole ICAd tuvastamine piisavalt standardiseeritud ning on küllaltki aeganõudev poolkvalitatiivne analüüs (Leiva *et al.*, 2007).

1.4.4 Insulinoomiga seotud valk 2 vastased autoantikehad

Insulinoomiga seotud valk 2 (IA-2) on 7. kromosoomis asuva geeni poolt kodeeritud 979-aminohappeline transmembraane valk, mis kuulub türosiin fosfaatide perekonda. IA-2te leidub pea kõikide peptiide sekreteerivate endokriinrakkude ja neuronite sekretoorsetes graanulites (Solimena *et al.*, 1996). IA-2 geeni ekspresseeritakse normaalses kui ka kasvajalikes kõhunäärme rakkudes (Lan *et al.*, 1994) ning IA-2 vastaseid autoantikehi seostatakse insuliinsõltuva diabeedi tekkega (Mayrhofer *et al.*, 1995).

IA-2A levimusmääraks on T1D diagnoosiga laste seas kuni 90%. Nende teke viitab ägedale immuunvastusele ja aktiivsele diabeediga seotud autoantikehade sünteesile haiguse progressioonis (Krause *et al.*, 2012). IA-2A positiivsetel täiskasvanutel areneb ca 52% alates määramisehetkest 10 aasta vältel välja T1D (Whittingham *et al.*, 1997). T2D esinemise korral on näidatud kuni 2% patsientidest IA-2A positiivsust (Huang *et al.*, 2013) ning GDMi puhul 0-6,2% (Dozio *et al.*, 1997).

1.4.5 Türeoid peroksüdaasi vastased autoantikehad

Üheks sagedaimaks endokriinsüsteemi patoloogiaks rasedatel on kilpnäärme erinevad haigused, millest türeoidiiti esineb kuni 2% rasedatest (Allan *et al.*, 2000). Autoimmuunse türeoidiidile on iseloomulikud kilpnäärme peroksüdaasi vastaste autoantikehade (anti-TPO)

esinemine vereseerumis (De Groot *et al.*, 2012), sh. Hashimoto türeoidiidi korral moodustavad nad kuni 90%, Graves'i tõve korral kuni 75% ja türeoidnäärme kartsinoomi korral kuni 20% kõikidest leiduvatest autoantikehadest (Werner *et al.*, 2005). Anti-TPO esinemine rasedate hulgas on aga veelgi sagedasem, moodustades 10-20% kõikidest rasedatest naistest (Loh *et al.*, 2016; Stagnaro-Green *et al.*, 2011). Anti-TPO esinemine normaalse kilpnäärme talitlusega raseda naise vereseerumis ennustab 40-60% naistest sünnitusjärgsel perioodil türeoidiidi teket (Pop *et al.*, 1993). Rasedusjärgset türeoidiiti esineb 1-17% sünnitanud naistest ja haiguse tekke tõenäosus on neil naistel suurim esimese sünnitusjärgse aasta jooksul (Feldt-Rasmussen *et al.*, 1990). Lisaks autoimmuunse kilpnäärme vastase reaktsiooni olemasolule seostatakse kilpnäärme vastaseid autoantikehi viljatusega, nurisünnitusega ja enneaegse lapse sünniga (van den Boogaard *et al.*, 2011). Eelpool nimetatud põhjustel määratakse rasedatel naistel mõnel pool anti-TPOde olemasolu (Stagnaro-Green *et al.*, 2011). Samas on koolkondi, kus kilpnäärme antikehi rasedatel määrata põhjendatuks ei peeta, nende liiga sagedase esinemise ja nõrga haigusseose tõttu raseduse korral (Negro *et al.*, 2010).

Erinevalt tervest rasedast naisest peetakse GDMi esinemist riskifaktoriks rasedusjärgse türeoidiidi ja türeoidnäärme vastaste autoantikehade tekkele (Maleki ja Tavosi, 2015; Olivieri *et al.*, 2000). Sünnitusjärgsel perioodil on T1D põdevatel emadel kõrgem risk kliiniliselt avalduvaks kilpnäärme funktsiooni häireks, samas kui diabeeti mitte-põdevatel ehk tervetel emadel avaldub kilpnäärme antikehade olemasolu sageli sümptomiteta kulgeva hüpötüreoidismina (Gerstein, 1993). Viimati mainitu aga vähendab insuliini poolt vahendatud glükoosi transporti lihasrakkudesse, mis omakorda tingib insuliiniresistentsust (Lambadiari *et al.*, 2010). Hüpötüreosis või IR raseduse ajal võib põhjustada häireid platsenta arengul, preeklampsiat ja enneaegset sünnitamist, vastsündinul aga kohanemishäireid või vaimset arengupeatust (Casey *et al.*, 2005; Davis *et al.*, 1988). Just nende riskigrupi rasedate sõelumine ning vajadusel ravi osutamine on kriitilise tähtsusega ennetamaks nimetatud tüsistuste teket emale ja tema vastsündinule (Gerstein, 1993).

1.5 Tsütokiinide iseloomustused grupiti

Tsütokiinid on immuunsüsteemi rakkude poolt sekreteeritud signaalvalgud, mis vahendavad ja reguleerivad immuunreaktsioone. Tsütokiine toodetakse vastusena välistele ärritajatele nagu vigastused, infektsioonid ja stress (Abbas *et al.*, 2014). Lisaks immuunrakkudele toodavad tsütokiine mitmed teisedki koed nagu valge adipooskude ja platsenta (Saito, 2000). Mitmed tsütokiinid osalevad samaaegselt nii hormoonide ainevahetuses kui ka immuunrakkude

reguleerimises. See mehhanism aitab tagada organsüsteemide samaaegse ja kontrollitud vastuse kujunemist erinevates stressolukordades (Kelso, 1998).

1.5.1 Adipokiinid

Adipoossuse esinemine raseduse ajal suurendab tõenäosust IR-GDMi tekkeks. Lisaks mõjutab raseduse ajal esinev või tekkiv GDM ka lapse üsasisest keskkonda, mille tulemusel suureneb ka seal põletikutsütokiinide ja insuliini tootmine loote poolt (Desoye ja Mouzon, 2007).

Leptiin on adipokiin, mida toodetakse proportsionaalselt keha rasvamassile (Frederich *et al.*, 1995) ning vabastatakse rasvarakkudest näljatunde vaigistamise eesmärgil (Halaas *et al.*, 1995). Lisaks kehakaalu reguleerimisele on leptiinil roll nii kaasasündinud kui ka omandatud immuunsüsteemi rakkude regulatsioonis (Lord *et al.*, 1998; Santos-Alvarez *et al.*, 1999). Paastuperioodil vähenevad nii glükoosi, insuliini kui ka resistiini mRNA ja valguprodukti kogused ning taastuvad söömise järgselt. Sel põhjusel peetakse resistiini oluliseks ühenduslüliks T2D ja adipoossuse vahel (Rajala *et al.*, 2004). Viimati mainitu korral on resistiini tootvad makrofaagid migreerunud vitseraalsesse valgesse adipooskoosse (Curat *et al.*, 2006).

Mida kõrgem on organismi rasvumise tase, sh triglütseriidide väärtus ja KMI, seda rohkem toodavad adipotsüüdid monotsüütide kemoatraktant proteiin 1 (MCP-1), mis reguleerib monotsüütide vabanemist luuüdist ning edasist migreerumist põletikukoldesse kaasates seejuures omandatud immuunsüsteemi rakke. Hüpertensiooni, T2D ja IR esinemist iseloomustab MCP-1 kõrge kontsentratsioon veres (Christiansen *et al.*, 2004; Simeoni *et al.*, 2004). Põletikuliste omadustega tsütokiinide nagu tuumori nekroosi faktor α (TNF- α) ja interleukiin-6 (ingl *interleukin*, IL), kasvuhormooni ja insuliini mõjul suureneb pre-adipotsüütide MCP-1 väljutamine, adiponektiini mõjul aga väheneb. Sellest tulenevalt paraneb rakkude insuliintundlikkus ning adiponektiini taseme tõstmist kasutatakse T2D ravis (Kanda, 2006).

Aina enam kirjeldatakse adipokiinide olulisust ja rolli eelpool nimetatud protsessides. Seetõttu muutused adipokiinide tasemes võivad olla seotud põletikulise olukorra või metaboolsete häirete tekkega ning see omakorda võib kulmineeruda IR tekkega (Mohamed-Ali *et al.*, 1998).

1.5.2 Põletiku regulatsiooniga seotud tsütokiinid

Siia liigituvad tsütokiinid, mis põhiliselt aktiveerivad kaasasündinud ja omandatud immuunsüsteemi rakke, võimendades sellega põletiku kulgu. Adipoossusega kaasnev põletik võib soodustada pankrease antigeenide vastast autoimmuunsete reaktsioonide teket (Haller-Kikkatalo *et al.*, 2015), beetarakkude hävinemist, IR ja diabeedi kujunemist. Põletikumarkerite määramine võimaldab hinnata haigust, selle võimalikke tulevasi komplikatsioone ja kulgu (Grossmann *et al.*, 2015).

IL-12 tõstab valdavalt põletikuliste omadustega interferoongamma (IFN- γ), TNF- α , IL-2, IL-8 ja granulotsüüdi-monotsüüdi kolooniat stimuleeriva faktori (GM-CSF) taset veres, mis tingib põletiku progressiooni (Aste-Amezaga *et al.*, 1994; Perussia *et al.*, 1992). IFN- γ vahendab HLA I ja II klassi ekspressiooni rakupinnal, stimuleerib antigeeni esitamist ja tsütokiinide tootmist antigeeni esitlevate rakkude poolt (Abbas *et al.*, 2014).

IL-17 isovormid on ülesreguleeritud akuutses põletikus ja bakteriaalsete infektsioonide korral, kus nad algatavad T-raku vahendatud immuunvastust rakuvälistele patogeenidele (Abbas *et al.*, 2014). Need stimuleerivad IL-6, IL-8, GM-CSF ja transformeeriva kasvufaktori β (TGF- β) isovormide tootmist, mille tulemusena meelitatakse põletikukoldeesse neutrofiile, monotsüüte ja teisi põletikus osalevaid immuunrakke (Abbas *et al.*, 2014; Fossiez *et al.*, 1996). Lastel, kel esineb T1D on IL-17 sekretsioon ja tase veres märgatavalt suurenenud (Honkanen *et al.*, 2010). IL-17 isovormide neutraliseerimises nähakse terapeutilist ravimeetodit autoimmuunhaiguste ennetamisel (Emamaullee *et al.*, 2009).

IL-21 ja IL-23 osalevad T-rakkude proliferatsiooni suunamises IL-17 sekreteerivaks abistaja T-lümfotsüüdi (Th17) rakutüübiks (Abbas *et al.*, 2014) ning stimuleerivad põletiku võimendamise eesmärgil IFN- γ taseme tõusu (Abbas *et al.*, 2014; Strengell *et al.*, 2003).

Peamiselt põletikuvastase toimega, kuid pleiotroopsete tsütokiinide hulka kuuluvad IL-10 ja IL-27 suruvad maha immuunrakkude efektorfunktsioone ning mõjuvad põletikku pärssivalt. IL-10 blokeerib põletikureaktsioonis osalevate IFN- γ ja IL-1 α (Fiorentino *et al.*, 1989; Malefyt *et al.*, 1991) ning makrofaagide ning dendriitrakkude poolt toodetud TNF- α , IL-6 ja IL-12 sünteesi (Abbas *et al.*, 2014). Veel enam, IL-27 ergutab IL-10 suuremat produktsiooni ning koos on nad võimelised efektiivselt alla suruma põletikku ja autoimmuunseid reaktsioone (Pot *et al.*, 2011).

1.5.3 Omandatud immuunvastuse tsütokiinid

Siia gruppi kuuluvad tsütokiinid, mis reguleerivad enamasti lümfotsüütide jagunemist ja diferentseerumist antigeeni äratundmise ning esitlemise järgselt. T-rakkude kasvufaktor IL-2 ja IL-15 osalevad loomulike tapjarakkude (NK-rakkude) ja antigeeniga aktiveeritud immuunrakkude elutähtsates protsessides nagu kasv, jagunemine ja elulemus (Abbas *et al.*, 2014).

IL-2 juhib T-raku vahendatud immuunvastuse kulgu. Leptiin tõstab IL-2 retseptori α subühiku (IL-2R α) ekspressiooni T-rakkudes, mis omab IL-2 ja IL-15 produktsiooni aktiveerivat ning ka antiapoptootilist toimet (Martín-Romero *et al.*, 2000; Papathanassoglou *et al.*, 2006). IL-4 aktiveerib transkriptsioonifaktoritest GATA-3, mistõttu toodetakse arvukalt IL-5 ja IL-13. Nimetatud kolm tsütokiini osalevad peamiselt allergilistes põletikureaktsioonides. IL-4 koos IL-13 suruvad alla IFN- γ vahendatud makrofaagide aktivatsiooni, mistõttu nimetatud tsütokiinid osalevad rakusisese mikroobi vastase immuunvastuse tekke pidurdamisel (Abbas *et al.*, 2014).

IL-22 vahendab koos IL-17ga autoimmuunsetes haigustes põletikulisi reaktsioone (Abbas *et al.*, 2014). Pankreas ekspresseerib arvukalt IL-22 retseptorit ning IL-22 seondumise tagajärjel vallandub kõhunäärme rakkudes ellujäämissignaal, mis aktiveerub raku kaitsemehhanismid kahjustuse vältimiseks (Radaeva *et al.*, 2004). IL-2, IL-4, IL-5, IL-13, IL-15 ning IL-22 on toodetud peamiselt T-rakkude ja NK-rakkude poolt ning nad suunavad naiivseid T-rakke arenema erinevate lümfotsüütide alampopulatsioonide suunas. Seetõttu reguleerivad valdavalt just need tsütokiinid tekkinud immuunvastuse iseloomu (Abbas *et al.*, 2014).

1.5.4 Kemokiinid

Kemokiinid on 5-20 kDa molekulmassiga hepariini siduvad väikesed valgud. Kemokiine toodetakse endoteeli- ja epiteelirakkude, fibroblastide ja aktiveeritud leukotsüütide poolt (Abbas *et al.*, 2014; Baggiolini, 1998). Nad osalevad viimati mainitute liikumise ja pesastumise reguleerimises ning koe paranemises, organite morfogeneesis ja kasvajate metastaseerumises (Abbas *et al.*, 2014).

IFN- γ mõjutusel toodetud 10 kDa molekulmassiga interferoon- γ indutseeritav valk 10 (IP-10) osaleb monotsüütide ja NK-rakkude aktiveerimises, T-rakkude küpsemises ja migratsioonis ning adhesioonimolekulide ekspressiooni moduleerimises. Makrofaagi põletiku proteiin 1 β (MIP-1 β) aktiveerib ja kaasab makrofaage, T-rakke, dendriittrakke, monotsüüte ja NK-rakke põletikukoldesse (Abbas *et al.*, 2014; Dorner *et al.*, 2002) ja reguleerib antigeeni stimulatsiooni

järgset lümfotsüütide vastust (Taub *et al.*, 1993). IL-8 sünteesi algatavad lipopolüsahhariidid, IL-1, TNF- α ja mitmed erinevad viirused (Murayama *et al.*, 1994) ning see võimendab neutrofiilide oksüdatiivse purske teket (Guichard *et al.*, 2005) ja põletiku progressiooni (Strieter *et al.*, 1995).

IP-10 ja IL-8 kõrgemaid väärtusi seostatakse T2D esinemisega (Herder *et al.*, 2006), IP-10 ja MIP-1 β T1D tekkega (Bradley *et al.*, 1999) ning IL-8 GDMi patoloogiaga (Kleiblova *et al.*, 2010).

1.5.5 Peamiselt hematopoeesi stimuleerivad tsütokiinid

Tsütokiinid kontrollivad ka hematopoeetiliste rakkude tootmist, jagunemist, diferentseerimist ja ellujäämist. Kõrvalekalle nende tsütokiinide sekretsioonis põhjustab tõsiseid immuunsüsteemi funktsioneerimise häired nagu näiteks immuunpuudulikkus, ebapiisav vereloome ja leukeemia. Kliinilises praktikas kasutatakse hematopoeetilisi kasvufaktoreid vereloome rakkude produktsiooni ergutamisel. See terapeutiline meetod on aidanud miljoneid inimesi üle maailma (Abbas *et al.*, 2014).

GM-CSF aktiveerib perifeerse vere monotsüüte ja dendriittrakke osaledes seeläbi põletiku progressioonis (Abbas *et al.*, 2014). Näidatud on GM-CSF kaitsvat mõju dendriitrakkudele, mille ebanormaalset kasvu ja defektide esinemist seostatakse diabeedi esinemisega (Gaudreau *et al.*, 2007).

IL-7 on vajalik lümfotsütaarse eellasrakkude paljunemisel ja antiapoptootiliste valkude ekspressiooni aktiveerimisel. See võimaldab T-rakkude madalatasemelist jagunemist, mis tingib pikema T-mälurakkude populatsiooni elulemuse (Abbas *et al.*, 2014). Nimetatud omaduste tõttu osaleb IL-7 T1D patoloogia arengus (Pinaranda *et al.*, 2012).

1.6 Tsütokiinide roll raseduses ja diabeedi kujunemisel

Tsütokiinide roll raseduses seisneb peamiselt põletikulise keskkonna stimuleerimise ja vaigistamise optimaalses reguleerimises ning IR suurendamises rasedusaegseks ainevahetuslikuks kohanemiseks (Vassiliadis *et al.*, 1998). GDMi nagu ka rasvumist iseloomustab madalatasemeline krooniline põletikuline seisund, mille üheks põhjuseks on just tsütokiinide muutunud produktsioon (Retnakaran *et al.*, 2003). Isheemiline rasvkude põhjustab eelkõige mitme IR tekkesse panustava tsütokiini taseme tõusu veres. Lisaks normaalse

rasedusega kaasas käivate muutustega toodavad diabeetilise raseduse korral valge rasvkude ja platsenta tavalisest enam põletikutsütokiine (Desoye ja Mouzon, 2007).

TNF- α on põletikureaktsioonis osalev tsütokiin, mis toimib läbi enda retseptorite ning seondub endoteelirakkudega, et võimaldada granulotsüütide ekstravasatsiooni ja invasiooni põletikukoldesse (Abbas *et al.*, 2014). Mida enam väljendunud on organismi IR, seda enam ekspresseeritakse TNF- α rasvkoos (Hotamisligil *et al.*, 1995). TNF- α tõstab teiste IR, rasvumise, diabeedi ja südamehaiguste tekkega seotud tsütokiinide nagu näiteks plasminogeeni aktivaatori inhibiitori tüüp 1 (PAI-1) ja TGF- β isovormide taset veres (Samad *et al.*, 1999).

PAI-1 tootmine suureneb oluliselt rasvumise puhul (Mavri *et al.*, 2001). PAI-1 kõrgemad tasemed iseloomustavad patsiente, kel esineb insuliin-sõltumatu diabeet (Auwerx *et al.*, 1988), hüperinsulineemia või adipoosus (Shimomura *et al.*, 1996). TGF- β isovormide kõrgemad tasemed on seotud rasvumise, diabeedi ning äsja nimetatute esinemisest tingitud südamehaiguste tekkega (Samad *et al.*, 1997). TNF- α võimendab ka IL-6 tootmist, millel on nii põletikureaktsiooni soodustavad kui vaigistavad omadused.

Põletiku algatajana võimaldab IL-6 väljuda akuutse faasi valkudel, sealhulgas ka CRP, vereringesse ning suunab B-lümfotsüüte diferentseeruma immunoglobuliine tootvateks plasmarakkudeks (Heinrich *et al.*, 1990; Urashima *et al.*, 1996). Glükoosi taseme tõus veres stimuleerib IL-6 produktsiooni ning omakorda IL-6 põletikulised omadused võimendavad organismis IR teket. Põletikureaktsioonides osalevad TNF- α ja IL-6 blokeerivad adiponektiini ekspressiooni ja sekretsiooni adipotsüütidest (Fasshauer *et al.*, 2003). Üheskoos soodustavad nad lipiidide ainevahetuse häirete teket, rasvumist ja T2D väljakujunemist (Dandona *et al.*, 2004). Näiteks ka GDMi patoloogiat iseloomustab viimati mainitud tsütokiinide kõrgemad ning adiponektiini madalamad väärtused (Atégbo *et al.*, 2006).

Adiponektiin on põletikuvastase toimega ja insuliini tasemest mõjutatud adipokiin (Berg *et al.*, 2001), mille kontsentratsioon veres väheneb rasvumisel ning IR kujunemisel. Sellest lähtuvalt on kõrge adiponektiini taseme korral väiksem risk T2D tekkeks võrreldes madala adiponektiini tasemega (Spranger *et al.*, 2003).

IL-1 perekonna tsütokiinid võimendavad IL-2 ja tema retseptori produktsiooni Th rakkudel, misjärel nad aktiveeruvad (Lichtman *et al.*, 1988). IL-1 on seega põletikutsütokiin, mis kliiniliselt seostub palaviku, akuutse faasi valkude suurenenud sünteesiga ning võimendab anoreksiat ja väsimust (Dinarello, 1991). IL-1 perekonna tsütokiinidest IL-1 β on seostatud insuliini tootvate kõhunäärme beetarakkude hävimisega ja sellega kaasaskäiva põletikurakkude

migratsiooniga tsirkulatsioonist ekstravaskulaarsesse ruumi (Bendtzen *et al.*, 1986; Dinarello, 2009).

1.7 Rasedus ja sünnitusjärgne periood gestatsioonidiabeedi korral

GDMi esinemine mõjutab nii ema kui ka tema last: rohkem kui 50% GDM diagnoosiga naistel võib sünnitusjärgselt välja kujuneda kas T1D või T2D ning tema lapsel on kõrgem risk rasvuda, haigestuda ise diabeeti (Retnakaran *et al.*, 2008) või südame ja veresoonkonna haigustesse (Reynolds *et al.*, 2013). Lisaks mainitule on rasedusaegne GDM riskiks preeklampsia tekkele ja makrosoomiale ning sellest tulenevalt suureneb keisrilõigete vajaduse sagedus nende naiste seas (Landon *et al.*, 2009).

Samuti põhjustab ema rasedusaegne hüperglükeemia muutusi loote pankrease töös, et kompenseerida tavapärasest kõrgem veresuhkru tase ka lootel (Silverman *et al.*, 1995). Selle tulemusena aga esinevad diabeeti haigestunud raseda naise vastsündinul sünnitusjärgse perioodi kohanemiskasvused, mis väljenduvad eelkõige hüperinsulineemia ja sellest tuleneva hüpoglükeemiana, aga ka hüperbilirubineemiana (Landon *et al.*, 2009). GDM raseduses võib viia organismis rauapuudulikkuseni ja see mõjutab negatiivselt loote arenevat aju. Kompenseerimata diabeediga rasedatel on täheldatud muutusi vastsündinute ajustruktuuris. Viimane väljendub muutustes närvirakkude struktuuris ja funktsioonis ning vigases neuraaltoru kinnikasvus. Need häired on otseselt põhjustatud emaüsa hüperglükeemilise keskkonna poolt (Reece *et al.*, 1985).

Ravi või dieediga kompenseerimata rasedusaegne diabeet on seotud mitmete vastsündinu komplikatsioonidega: makrosoomse lapse sünd, sünnitraumad, vajadus lühiajaliseks sünnijärgseks kopsude ventilatsiooniks, häired südamelihase lõdvenemises või diastoolses faasis vasaku vatsakese puuduliku täitumisega väljenduv südamelihase funktsiooni halvenemine, hüpokaltseemia ja erüteemia, suulaelõhe ja teiste sünnidefektide esinemine või vastsündinu äkksurm (Åberg *et al.*, 2001; Hay Jr, 2012; Langer *et al.*, 2005; Mehta *et al.*, 1991; Metzger *et al.*, 2007). Vastsündinu äkksurma seostatakse diabeedi korral esineva atsidoosi ja loote hüperinsulineemiaga. Viimase tõttu on suurenenud metaboolne aktiivsus ja see põhjustab ebapiisavat hapniku transporti, mille tagajärjel tekib diabeediga ema lootel hüpoksiline seisund (Teramo, 2010). GDM diagnoosiga emade tütreid omavad suuremat riski GDM esinemisele oma raseduse ajal, mistõttu on diabeetilistest rasedusest hakatud rääkima kui päritavast haigusest (Egeland *et al.*, 2000).

1.7.1 Gestatsioondiabeedi tuvastamine ja võimalikud ravimeetodid

GDMi varajane avastamine võimaldab ära hoida kompenseerimata diabeedist tulenevaid tervisekahjusid ning anda informatsiooni suhkruhaiguse taastekke riski kohta hilisemas elus. Käesoleval hetkel põhineb GDMi diagnoosimine suhkruainevahetushäire tuvastamisel raseduse II trimestril. Selline diagnoosimine võimaldab tuvastada need rasedad, kes käesoleva raseduse ajal vajavad diabeedi ravi, kuid ei pretendeeri GDM tekkepõhjuste ega patogeneesi väljaselgitamisele. Viimasel ajal on GDMist hakatud rääkima kui T1D ja T2D riski varasest ilmingust. Sõltuvalt GDMi patogeneetilise mehhanismist, erineb GDMi mõju rasedusele ja prognoos sünnitusjärgse diabeedi tekkele. Seega suureneb vajadus eristada GDM haigete hulgas haiguse patogeneetilisi alagruppe.

Raseduseelne tervislik eluviis vähendab riski ja on parim ennetusmeetod GDMi tekkele (Zhang *et al.*, 2014). Eesti Naistearstide Seltsi 2001a. ettekirjutiste alusel on GDMi esmaseks ravivõtteks patsiendi dieedi nõustamine, piirates toidu energeetilist väärtust 1600-2100 kcal/päevas. Kui dieedi rakendamine veresuhkru väärtusi ei normaliseeri, alustatakse ravi insuliini manustamisega, mida rakendatakse rasedatel sõltumata GDM patogeneetilisest taustast (kas AI-GDM või IR-GDM).

2 TÖÖ EESMÄRK

Käesoleva magistritöö põhieesmärgiks oli leida kliinilises praktikas kasutatavate uuringute hulgast need parameetrid, mille alusel oleks võimalik eristada gestatsioondiabeedi (GDM) ja selle riskiga rasedate hulgast autoimmuunse geneesiga haigust (AI-GDM) insuliinresistentsusele baseeruvast diabeedist (IR-GDM).

Täpsemad töö eesmärgid olid seega:

1. Kirjeldada anamnestilisi ja kliinilisi parameetreid hetkel kehtivate diagnostiliste kriteeriumite abil moodustatud GDM patsientidel ja täiendavate analüüside tulemusel moodustunud GDM alagrupi patsientidel.
2. Iseloomustada GDM alagruppe lähtuvalt immuunsüsteemi reguleerivate tsütokiinide väärtustest.

3 MATERJAL JA METOODIKA

3.1 Valim ja uuringumaterjal

Uuringus osales 250 üksikrasedusega isikut vanuses 19 – 45 aastat, kes suunati raseduse II trimestril (24.-28. gestatsiooni nädalal) GTT-le ajavahemikul 2013-2015 SA TÜK Naistekliinikus. GTT on regulaarvaatluse korras tehtav glükoosi ainevahetuse häirete tuvastamise standardiseeritud koormustest. GDM diagnoosimiseks kasutatava GTT hindamiseks on kasutusel rasedusele kohandatud referentsväärtused (**Tabel 1**). Rasedatel naistel määrati pärast 8-16 tundi paastumist hommikune vereseerumi glükoositase ehk paastuglükoosi väärtus. Seejärel jõid patsiendid 75g glükoosis valmistatud lahust ning neil määrati vereseerumi glükoositase 1 ja 2 tundi pärast testi. Lähtudes GTT kriteeriumitest diagnoosis SA TÜK Naistekliiniku sisehaiguste arst GDMi 53 patsiendil ning ülejäänud 197 rasedat naist moodustasid antud uuringus võrdlusgrupi.

Uuritavate värbamist läbiviiv SA TÜK Naistekliiniku ämmaemand kohtus uuritavatega kahel korral: 1) uuringusse astumise hetkel raseduse II trimestril ning 2) sünnitusjärgselt alates 6. sünnitusjärgsest nädalast. Rasedatelt naistelt küsiti terviseandmeid vastavalt küsimustikule, koguti andmeid elektroonsest rasedakaardist, sünnitusloost, vastsündinu loost ning võeti vereproov. Uuritavate verest määrati diabeediga seonduvad kliinilises praktikas kasutusel olevad vere näitajad. Patsientide anamnestilised ja kliinilised andmed on esitatud **tabelis 2**.

Patsientide veri koguti vereseerumi eraldamiseks lisanditeta verekatsetitesse ja plasma eraldamiseks vastavalt etüleendiamiintetraädikhappe (EDTA) hüübimisaktivaatorit sisaldavatesse verekatsetitesse. Verekatseteid tsentrifuugiti toatemperatuuril 2000 rpm 15 minutit (Centrifuge 5424R, Eppendorf AG, Saksamaa). Eraldatud vereseerum ja plasma jaotati 100 µl kaupa tuubidesse ning külmutati. Vereseerumeid säilitati -40°C juures ja plasmaproove -80°C juures.

Tabel 2. Uuritavate kirjeldus

Tunnus	Gestatsioondiabeet (N=53)	Võrdlusgrupp (N=197)	Kõik uuritavad (N=250)
Raseduse anamnees			
Raseduse suurus uuringu alguses (nädalat + päeva)	26 nädalat 5 päeva (12 päeva)	26 nädalat 3 päeva (12 päeva)	26 nädalat 4 päeva (12 päeva)
Vanus uuringusse tuleku hetkel (aastates)	31,8 (5,10)	30,1 (5,40)	30,5 (5,37)
Aastaaeg uuringut alustades			
Talvekuud	9 (17,0%; 8,5-30,3)	50 (25,4%; 19,6-32,2)	59 (23,6%; 18,6-29,5)
Kevadkuud	21 (39,6%; 26,8-54,0)	74 (37,6%; 30,9-44,8)	95 (38,0%; 32,0-44,4)
Suvekuud	10 (18,9%; 9,9-32,4)	33 (16,8%; 12,0-22,9)	43 (17,2%; 12,9-22,6)
Sügiskuu	13 (24,5%; 14,2-38,6)	40 (20,3%; 15,1-26,7)	53 (21,2%; 16,4-26,9)
Raseduseelne kehamassiindeks (kg/m ²)	27,0 (5,44)	25,3 (4,64)	25,6 (4,86)
Alakaal (<19 kg/m ²)	0 (0%; 0-8,4)	4 (2,0%; 0,6-5,5)	4 (1,6%; 0,5-4,3)
Normaalkaal (19-24 kg/m ²)	19 (35,8%; 23,5-50,3)	96 (48,7%; 41,6-55,9)	115 (46,0%; 39,7-52,4)
Ülekaal (25-29 kg/m ²)	17 (32,1%; 20,3-46,5)	63 (32,0%; 25,6-39,1)	80 (32,0%; 26,3-38,2)
Adipoossus (30-100 kg/m ²)	17 (32,1%; 20,3-46,5)	34 (17,3%; 12,4-23,4)	51 (20,4%; 15,7-26,0)
Varasemad sünnitused			
Esmasünnitaja	20 (37,7%; 25,1-52,1)	93 (47,2%; 40,1-54,4)	113 (45,2%; 39,0-51,6)
Korduvsünnitaja	33 (62,3%; 47,9-74,9)	104 (52,8%; 45,6-59,9)	137 (54,8%; 48,4-61,1)
Ema kroonilised haigused			
Puudusid	28 (52,8%; 38,8-66,5)	130 (66,0%; 58,9-72,5)	158 (63,2%; 56,9-69,1)
(Auto)-immuunhaigused ¹	10 (18,9%; 9,9-32,4)	24 (12,2%; 8,1-17,8)	34 (13,6%; 9,7-18,6)
Raseduseelne hüpertensioon	2 (3,8%; 0,6-14,1)	1 (0,5%; 0-3,2)	3 (1,2%; 0,3-3,8)
Neeruhaigus	1 (1,8%; 0,1-11,4)	0 (0%; 0-2,4)	1 (0,4%; 0-2,6)
Südamehaigus ²	1 (1,8%; 0,1-11,4)	10 (5,1%; 2,6-9,4)	11 (4,4%; 2,3-8,0)
Viljatus	3 (5,7%; 1,5-16,6)	9 (4,6%; 2,2-8,8)	12 (4,8%; 2,6-8,5)
Muud haigused ³	8 (15,1%; 7,2-28,2)	20 (10,2%; 6,5-15,5)	28 (11,2%; 7,7-15,9)
Ema ravimite tarbimine raseduse ajal			
Ei tarvitanud	42 (79,3%; 65,5-88,7)	181 (91,9%; 86,9-95,1)	223 (89,2%; 84,5-92,6)
Tarbis ravimeid ⁴	10 (18,9%; 9,9-32,4)	14 (7,1%; 4,1-11,9)	24 (9,6%; 6,4-14,1)
Raseduseelne viljatusravi vajadus			
Spontaanne rasedus	50 (94,3%; 83,4-98,5)	186 (94,4%; 90-97,0)	236 (94,4%; 90,6-96,8)

(Tabel 2. järg)

Tunnus	Gestatsioondiabeet (N=53)	Võrdlusgrupp (N=197)	Kõik uuritavad (N=250)
Vajas kaasuva haiguse ravi	2 (3,8%; 0,7-14,1)	2 (1,0%; 0,2-4,0)	4 (1,6%; 0,5-4,3)
Vajas tsükli hormonaalset korrigeerimist	1 (1,8%; 0,1-11,4)	3 (1,5%; 0,4-4,8)	4 (1,6%; 0,5-4,3)
Teostati kunstlik viljastamine	0 (0%; 0-8,4)	6 (3,1%; 1,3-6,8)	6 (2,4%; 1,0-5,4)
Vererõhu väärtus >140/90 mm/Hg uuringu alguses	10 (18,9%; 9,9-32,4)	19 (9,7%; 6,1-14,9)	29 (11,6%; 8,0-16,4)
Süstoolse vererõhu kätevaheline erinevus >10 mm/Hg	19 (35,8%; 23,5-50,3)	52 (26,4%; 20,5-33,2)	71 (28,4%; 23,0-34,5)
Rasedusaegne vereanalüüs			
Hemoglobiin (g/L)	118,6 (10,92)	118,0 (8,08)	118,1 (8,73)
Leukotsüütide hulk ($\times 10^9/L$)	9,2 (2,13)	9,0 (2,04)	9,0 (2,06)
Paastuglukoos (mmol/L)	5,1 (0,46)	4,5 (0,29)	4,6 (0,42)
60. minuti GTT-testi veresuhkru väärtus (mmol/L)	9,5 (1,69)	6,8 (1,49)	7,4 (1,88)
120. minuti GTT-testi veresuhkru väärtus (mmol/L)	7,6 (1,33)	5,7 (1,15)	6,1 (1,41)
C-peptiid (nmol/L)	0,9 (0,31)	0,7 (0,21)	0,7 (0,25)
Üle referentsväärtuse ⁵ (>1,47 nmol/L)	0 (0%; 0-8,4)	2 (1,0%; 0,2-4,0)	2 (0,8%; 0,1-3,2)
Alla referentsväärtuse ⁵ (<0,37 nmol/L)	4 (7,6%; 2,5-19,1)	2 (1,0%; 0,2-4,0)	6 (2,4%; 1,0-5,4)
C-reaktiivne valk (mg/L)	5,1 (3,20)	3,9 (4,03)	4,1 (3,89)
Üle referentsväärtuse ⁵ (≥ 5 mg/L)	25 (47,2%; 33,5-61,2)	50 (25,4%; 19,6-32,2)	75 (30%; 24,5-36,2)
D-vitamiin (nmol/L)	58,0 (33,68)	55,0 (23,00)	55,6 (25,59)
Alla referentsväärtuse ⁵ (≤ 75 nmol/L)	37 (69,8%; 55,5-81,3)	159 (80,7%; 74,4-85,8)	196 (78,4%; 72,7-83,2)
D-vitamiini puudulikkus ⁶ (≤ 30 nmol/L)	14 (26,4%; 15,7-40,6)	36 (18,3%; 13,3-24,5)	50 (20%; 15,3-25,6)
Foolhappe väärtus (nmol/L)	27,5 (15,54)	23,2 (12,57)	24,1 (13,34)
Referents-vahemikus ⁵ (10,4-42,4 nmol/L)	47 (88,7%; 76,3-95,3)	169 (85,8%; 79,9-90,2)	216 (86,4%; 81,4-90,3)
Alla referentsväärtuse	1 (1,8%; 0,1-11,4)	16 (8,1%; 4,9-13,1)	17 (6,8%; 4,1-10,9)
Üle referentsväärtuse	5 (9,4%; 3,5-21,4)	12 (6,1%; 3,3-10,7)	17 (6,8%; 4,1-10,9)
Rasedusaegne kaaluiv (kg)	13,1 (5,86)	15,6 (6,39)	15,1 (6,36)
Rasedusaegsed komplikatsioonid ⁷	11 (20,8%; 11,3-34,5)	39 (24,2%; 18,0-31,7)	50 (20%; 15,3-25,6)
Sünnituse anamnees			
Raseduse suurus sünnitusel (nädalat + päeva)	39 nädalat 3 päeva (12 päeva)	39 nädalat 5 päeva (10 päeva)	39 nädalat 6 päeva (11 päeva)
Sünnituse viis			
Loomulik sünnitus	34 (77,3%; 61,8-88,0)	121 (75,2%; 67,6-81,5)	155 (75,6%; 69,0-81,2)

(Tabel 2. järg)

Tunnus	Gestatsioondiabeet (N=53)	Võrdlusgrupp (N=197)	Kõik uuritavad (N=250)
Sekkutud sünnitus ⁸	10 (22,7%; 12,0-38,2)	40 (24,8%; 18,5-32,4)	50 (24,4%; 18,8-31,0)
Sündinud lapse sugu			
Poeglapsed	27 (61,4%; 45,5-75,3)	92 (57,1%; 49,1-64,8)	119 (58,1%; 51,0-64,8)
Tütarlapsed	17 (38,6%; 24,8-54,5)	69 (42,9%; 35,2-50,9)	86 (42,0%; 35,2-49,0)
Makrosoomse lapse sünd	2 (4,6%; 0,8-16,7)	16 (9,9%; 6,0-15,9)	18 (8,8%; 5,4-13,7)
Apgari hinne			
1. eluminutil ≤ 7	5 (11,4%; 4,3-25,4)	20 (10,2%; 6,5-15,5)	25 (12,2%; 8,2-17,7)
5. eluminutil ≤ 7	2 (4,6%; 0,8-16,7)	9 (5,6%; 2,8-10,7)	11 (5,4%; 2,9-9,7)
Lapse diagnoosid 0.-3. elupäeval			
Terve	34 (77,3%; 61,8-88,0)	121 (75,6%; 68,1-81,9)	155 (76,0%; 69,4-81,6)
Kohanemis-häired ⁹	3 (6,8%; 1,8-19,7)	13 (8,1%; 4,6-13,8)	16 (7,8%; 4,7-12,7)
Muud diagnoosid ¹⁰	7 (15,9%; 7,2-30,7)	26 (16,3%; 11,1-23,1)	33 (16,2%; 11,5-22,1)
Sünnitusjärgse perioodi anamnees			
Sünnitusest möödunud aeg (kuudes)	3,2 (2,07)	2,5 (2,07)	2,6 (2,09)
Vererõhu väärtus >140/90 mm/Hg	8 (18,2%; 8,7-33,2)	17 (10,6%; 6,4-16,6)	25 (12,2%; 8,2-17,7)
Süstoolse vererõhu käevaheline erinevus >10 mm/Hg	11 (25,0%; 13,7-40,7)	55 (34,2%; 27,0-42,1)	66 (32,2%; 26,0-39,1)
Paastuglühkoos (mmol/L)	4,9 (0,51)	4,7 (0,51)	4,7 (0,51)
C-peptiid (nmol/L)	0,7 (0,26)	0,7 (0,30)	0,7 (0,29)
Üle referentsväärtuse ⁵ (>1,47 nmol/L)	2 (4,6%; 0,8-16,7)	10 (6,2%; 3,2-11,4)	12 (5,9%; 3,2-10,3)
Alla referentsväärtuse ⁵ (<0,37 nmol/L)	0 (0%; 0-10,2)	2 (1,2%; 0,2-4,9)	2 (1,0%; 0,2-3,9)
C-reaktiivne valk (mg/L)	4,5 (5,80)	2,1 (2,02)	2,6 (3,34)
Üle referentsväärtuse ⁵ (≥ 5 mg/L)	9 (20,5%; 10,3-35,8)	19 (11,9%; 7,5-18,2)	28 (13,7%; 9,5-19,4)
Kolesterool (mmol/L)	5,3 (1,09)	5,2 (0,90)	5,3 (0,94)
Referents-vahemikus ⁵ (2,9-6,9 mmol/L)	39 (88,6%; 74,7-95,7)	154 (95,7%; 90,9-98,1)	193 (94,2%; 90-96,8)
Üle referentsväärtuse ($\geq 6,9$ mmol/L)	5 (11,4%; 4,3-25,4)	7 (4,4%; 1,9-9,1)	12 (5,9%; 3,2-10,3)
HDL-kolesterool (mmol/L)	1,8 (0,57)	1,8 (0,46)	1,8 (0,48)
LDL-kolesterool (mmol/L)	3,3 (1,00)	3,3 (0,84)	3,3 (0,88)
Triglütseriidid (mmol/L)	0,9 (0,46)	0,9 (0,43)	0,9 (0,43)

Parameetrilised tunnused on esitatud keskvärtustena (standardhälve) ja analüüsitud kasutades Welch'i t-testi, mitteparameetrilised tunnused on absoluutarvudena (protsent koos 95% usaldusvahemikuga) ja analüüsitud proportsioontestiga; 1 – (auto)immuunhaiguste hulka loeti autoimmuunse türeoidiidi, trombotsütopeenia, bronhiaalastma, gluteenitalumatuse, endometrioosi, sarkoidoosi või reuma esinemine anamneesis; 2 – südamehaiguste hulka kuulusid kardiomüopaatiad, põetud müokardiit või

südame rütmihäired; 3 – muude haigustena esines laktoositalumatust, polütsüstiliste ovaariumide sündroomi, epilepsiat, adipoossust, migreeni või magediabeeti; 4 – rasedusaegselt tarvitatud ravimite hulgas esines asendusravi kilpnäärme hormooniga, kõrgvererõhuravimeid, verehüübimist vähendavad ravimid, epilepsiaravimid, magediabeedi ravimid või immuunsupressandid; 5 – SA TÜK Ühendlabori referentsväärtus; 6 – D-vitamiini puudulikkus veres (Nordic Council of Ministers, 2008); 7 – rasedusaegsete komplikatsioonide alla loeti ähvardav raseduse katkemise või enneaegse sünnituse esinemist, preeklampsia või rasedusaegse hüpertensiooni esinemist; 8 – sekkunud sünnituse hulka loeti sünnituse lõpetamist vaakumekstraktsiooni, plaanilise või erakorralise keisrilõike teel; 9 – kohanemishäiretega vastsündinute hulka loeti, kui lapsel esines makrosoomia, hüpoglükeemia või vajab laps intensiivravi sünnijärgselt; 10 – muude lapse sünnihetke haiguste hulka loeti reesuskonflikti, hüpotroofiat, enneaegsust, hüpoksiat, infektsioone või hüperbilirubineemiat. **Rõhutatud kirjas** on märgitud statistiliselt oluline väärtus, $p < 0,05$.

Kõikidelt uuritavatelt võeti kirjalik teadlik nõusolek enne uuringusse astumist. Uuring omab Tartu Ülikooli Inimuuringute eetika komitee luba (229/M-16, 23.09.2013) ja on kinnitatud SA TÜK eetika komitee poolt.

3.2 Autoantikehade määramine ELISA meetodiga

IA-2 (ElisaRSR™ IA-2Ab Version 2), GAD65 (ElisaRSR™GADAb) ja ZnT8 (ElisaRSR™ZnT8Ab™) vastaste autoantikehade kvalitatiivseks ja kvantitatiivseks määramiseks patsientide vereseerumitest kasutati ensüümkaudse immunosorptsioonimeetodi (ELISA) (RSR Limited, Cardiff, Inglismaa) analüüsi komplekti vastavalt tootjapoolsetele juhistele. Olenevalt konkreetsest autoantikeha määramise testist esines varieeruvust lahuste kogustes ja inkubatsiooniaegades.

Järgnevalt on kirjeldatud IA-2 autoantikehade määramise tööprotokoll: IA-2 autoantikehade määramiseks pipeteeriti IA-2 antigeeniga kaetud ELISA mikrotiiterplaadi vastavatesse kannudesse 50 µl uuritavate vereseerumit, tootja poolseid kalibraatoreid ning positiivset ja negatiivset kontrollseerumit. Antigeeni ja antikehade võimalikult spetsiifilise seondumise kiirendamise eesmärgil lisati 25 µl reaktsiooni võimendavat lahust, kaeti plaat kattekilega ning inkubeeriti 2-8 °C juures 16-20 tundi. Seejärel pesti plaati 3x450 µl tootja poolse pesulahusega, ja lisati igasse kannu 100 µl biotiiniga märgistatud sekundaarse antikeha lahust. Pärast seda kaeti plaat kilega ning inkubeeriti 2-8 °C juures 1 tund. ELISA plaati pesti eelnevalt kirjeldatud viisil ning pipeteeriti 100 µl 1:20-le lahjendatud streptavidiin-peroksüdaasi lahust igasse kannu ja inkubeeriti toatemperatuuril loksutades 500 rpm 20 minutit. Seejärel korrati ELISA plaadi pesu, et eemaldada seondumata streptavidiin-peroksüdaasi kompleks, ja pipeteeriti 100 µl peroksüdaasi substraati ning inkubeeriti toatemperatuuril pimedas 20 minutit. Reaktsiooni lõpetamiseks lisati 100 µl stopplahust, mis peatas reaktsiooni, igasse kannu, loksutati vähemalt 5 sekundit ning mõõdeti uuritavate proovide optilised tihedused lainepikkuste 405 ja 450 nm juures ELISA plaadilugejaga (Multiskan® MCC/340, Labsystems, Soome). Lõplike tulemuste

arvutamiseks kasutati analüüsil tarvitatud kalibraatorite ja kontrollide väärtuste põhjal tehtud kalibratsioonikõverat. Autoantikehade esinemist patsiendi vereseerumis hinnati patoloogiliseks kui nende kontsentratsioon ületas tootjapoolse testi piirväärtuse (**Tabel 3**). Tootjapoolsed lubatud testide spetsiifilisused GADA, IA-2A ja anti-ZnT8 testides jäid vahemikku 98-100% ja tundlikkused 64-92%. GADA ja IA-2A testid on kasutusel SA TÜ Kliinikumi Ühendlabori Immuunanalüüsi osakonna autoimmunitedi grupis diabeedi diagnostikas.

Tabel 3. Autoantikehade tootjapoolse testi piirväärtused.

Autoantikehad	Negatiivne	Positiivne
GADA Ig	<5 U/ml	≥5 U/ml
IA-2A IgG	<7,5 U/ml	≥7,5 U/ml
ZnT8 IgG	<15 U/ml	≥15 U/ml

Tootja poolt esitatud piirväärtused patsientide IA-2A, GADA ja anti-ZnT8 autoantikehade analüüsitulemuste interpreteerimiseks.

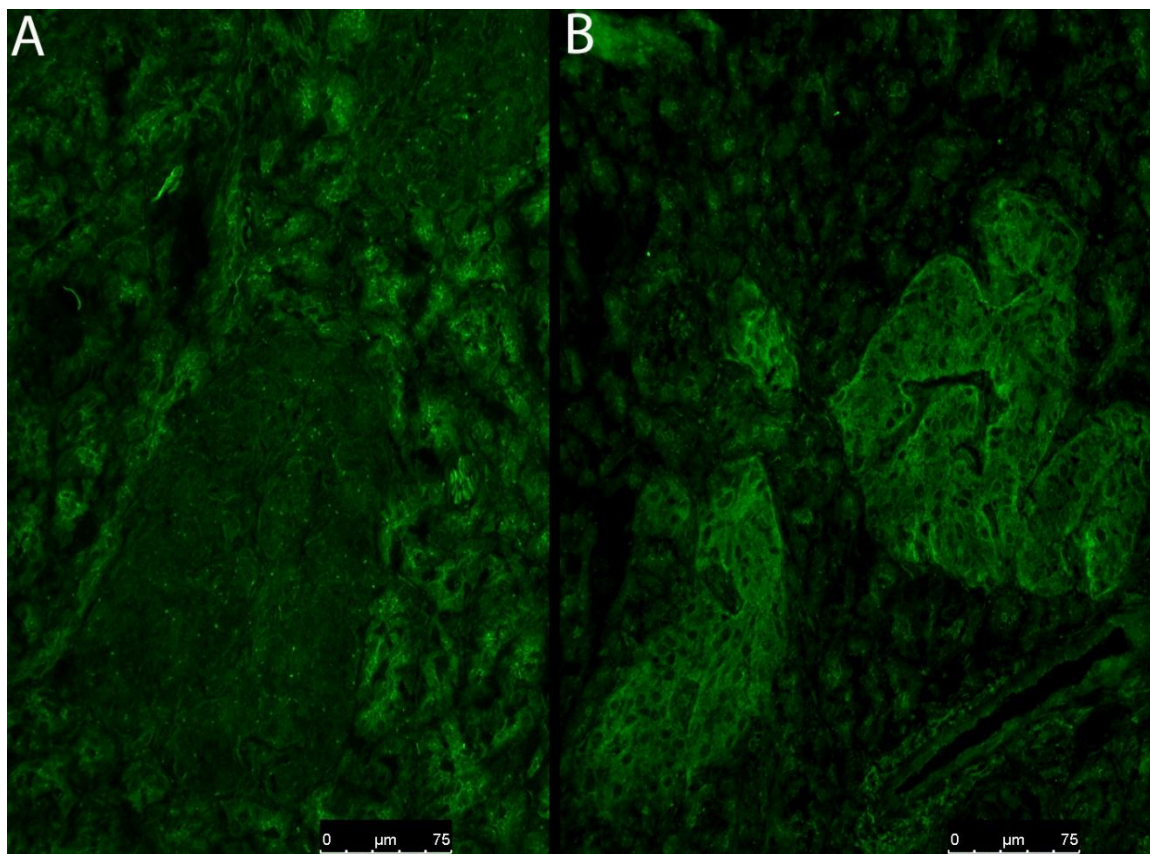
3.3 Kaudse immunofluorestsentsmeetodiga ICA määramine

Pankrease Langerhansi saarekeste vastaste autoantikehade (ICA) reaktsiooni hindamiseks kasutati kaudset immunofluorestsentsmeetodit inimese kõhunäärme koelõigul. Antud test on kasutusel SA TÜ Kliinikumi Ühendlabori Immuunanalüüsi osakonna autoimmunitedi grupis diabeedi diagnostika täiendava testina. Analüüsiks kasutatud pankrease kude kuulus 0-veregrupiga reesuspositiivsele 47-aastasele mehele. Kude oli külmutatud spetsiaalses lahuses (Sakura Tissue-Tek O.C.T.TM, Compound, Holland) ning sellest lõigati krüostaadi abil (Leica CM 1950, Leica Biosystems, Saksamaa) 5 µm lõigud. Lõigud asetati alusklaasidele (O. Kindler GmbH, Saksamaa) ning kuivatati õhu käes kuni 20 minutit. Antud töös kasutati lahjendamata (1:1) ja 1xPBS-iga (PBS: NaCl 8 g/l, KCl 0.2 g/l, Na₂HPO₄ 1.44 g/l, KH₂PO₄ 0.24 g/l, pH 7.4) lahjendatud (1:2) patsientide vereseerumeid ning positiivset ja negatiivset laborisisest kontrollseerumit kogumahuga 90 µl.

Koelõike inkubeeriti uuritavate vereseerumitega toatemperatuuril 30 minutit. Inkubatsiooni lõppedes pesti preparaate 2x10 minutit 1xPBS-is. Järgnevalt kaeti koelõigud sekundaarse antikehaga, milleks kasutati fluorestseiniisotiotsüanaadiga (FITC) konjugeeritud polükloonaalset küüliku inimese-IgG vastast antikeha (DAKO A/S, Taani) 1:40 lahjenduses 1xPBS-is. Preparaate inkubeeriti pimedas 30 minutit ja pesti 2x10 minutit 1xPBS-is. Autoantikehade olemasolu vereseerumis detekteeriti fluorestsentsmikroskoobiga (Olympus BX50, Olympus Europa SE & CO. KG, Saksamaa) nähtava roheline valguse lainepikkusel

(450-490 nm). Koelõike hindasid teineteisest sõltumata 2 uuringu läbiviijat. Autoantikehade esinemist loeti positiivseks kui immunofluorestsentsmusteri helendus oli tugevam kui negatiivsel kontrollseerumil (**Joonis 2**).

Kaheldava positiivse tulemusega seerumiproovide kontrollimise eesmärgil kasutati 3 juhul ahvi kõhunäärme koelõigul kaudset immunofluorestsentsmeetodit (EUROIMMUN, Saksamaa) vastavalt tootja juhisteile. Ahvi pankrease külmutatud koelõikudele pipeteeriti 30 µl uuritava seerumi erinevat lahjendust analüüsikomplekti proovipuhvriga (1:1, 1:2 ja 1:10) ning positiivset ja negatiivset kontrollseerumit. Preparaati inkubeeriti toatemperatuuril pimedas niiskes karbis 18 tundi. Seejärel pesti plaati 15 minutit PBS-Tweenis ja pipeteeriti prooviväljadele 25 µl FITC-märgistatud inimese vastaseid antikehi, mis detekteerivad nii IgA, IgG kui ka IgM spetsiifilisi antikehi. Preparaati inkubeeriti toatemperatuuril pimedas 30 minutit. Seejärel pesti plaati PBS-Tweenis 5 minutit, mille järel analüüsiti fluorestsentsmikroskoobi abil nähtava roheline valguse lainepikkusel (450-490 nm). Positiivseks hinnati tulemust, kui immunofluorestsentsmusteri helendus oli tugevam kui negatiivsel kontrollseerumil.



Joonis 2. ICA reaktsiooni hindamine inimese kõhunäärme koelõigul. Kaudse immunofluorestsentsi meetodiga ICA suhtes negatiivseks hinnatud proov (A) ja positiivseks hinnatud proov (B).

3.4 Anti-TPO IgG tüüpi määramine uuritavate vereseerumist Immunocap Specific IgG meetodiga

Uuritavatel määrati kilpnäärme peroksüdaasi vastaste IgG tüüpi autoantikehade esinemine täisautomaatsel Immunocap100 (Phadia® Laboratory Systems, Phadia AB, Rootsi) instrumendil. Immunocap Specific IgG meetod võimaldab määrata kvantitatiivselt IgG tüüpi autoantikehi.

Meetodi tööpõhimõte: uuritav antigeen on seotud kovalentselt tahkele pinnale, milleks on tselluloosi derivaat. See tekitab avatud kannus hüdrofiilse, väga suure antigeenide sidumisvõimega mikrokeskkonna. Proovis olevad uuritava antigeeni spetsiifilised antikehad seonduvad antigeenile. Antigeenile mittespetsiifilised seondumata IgG tüüpi antikehad eemaldatakse ning lisatakse ensüümiga konjugeeritud sekundaarsed antikehad. Pärast inkubatsiooni seondumata ensüüm-märgistatud antikehad pestakse pinnalt ning moodustunud komplekse inkubeeritakse reagentiga, mis sisaldab fluorestseeruvaid osakesi. Reaktsioon peatatakse stopplahusega ja mõõdetakse tekkinud fluorestsentssignaali. Mida kõrgem on signaal, seda suurem on detekteeritud antikehade tase uuritavas proovis. Saadud tulemused arvutatakse ümber kontsentratsioonideks kalibratsioonigraafiku alusel.

Anti-TPO IgG määramise tööprotokoll: kanaseerumit sisaldava puhverlahusega tehti uuritavate vereseerumitest sajakordsed lahjendused. Seejärel asetati instrumendi proovikarusselli kindlatele positsioonidele β -galaktosidaasiga märgistatud hiire monoklonaalsete IgG tüüpi sekundaarsete antikehadega lahus, β -D-galaktosiidi sisaldavat reaktsiooni ilmutuslahust, naatriumkarbonaati sisaldavat stopplahust ning masina protsessikambrisse laeti kilpnäärme peroksüdaasi antigeeniga kaetud analüüsikannud. Instrumendi tööprotsess: pipeteeriti 40 μ l uuritavate lahjendatud vereseerumeid eelnevalt pestud kilpnäärme peroksüdaasi antigeeni sisaldavatesse analüüsikannudesse, inkubeeriti 37 °C juures 30 minutit ning eemaldati seondumata antikehad 600 μ l pesulahusega. Analüüsikannudesse lisati sekundaarset antikeha lahus 50 μ l, inkubeeriti ning pesti. Seejärel lisati analüüsikannudesse 50 μ l ilmutuslahust, inkubeeriti ning reaktsioon peatati 600 μ l stopp-lahusega. Mõõdetud fluorestsentsi väärtusi võrreldi kalibratsioonigraafiku omaga, et saada uuritavate patsientide vereseerumist leitud antikehade kontsentratsioonid. Positiivseks hinnati tulemust, kui anti-TPO kontsentratsioonid ületasid testi piirväärtust 100 IU/ml ning negatiivseks kui need olid ≤ 100 IU/ml.

3.5 Tsütokiinide määramine

Tsütokiine määrati Milliplex[®]MAP *Magnetic Beads* (Millipore, Billerica, MA, USA) testkomplektidega uuritavate vereplasmast, mis sisaldas EDTA-hüübimisaktivaatorit. Plasmaproovid sulatati ühekordselt -80° C juurest toatemperatuurini vahetult enne tööprotsessi algust.

MILLIPLEX[®]MAP testikomplekt võimaldab detekteerida samaaegselt mitut erinevat tsütokiini ühest proovist. Konkreetse tsütokiini suhtes afiinsed magnetilised kerakesed on kaetud kindla värvikoodiga, mis vastab just sellele tsütokiinile. Kasutades vaid kaht fluorestsentsvärvi erinevates kontsentratsioonides, on võimalik moodustada ja detekteerida kuni 100 erinevat värvikoodi. Magnetilised kerakesed püüavad uuritava vereplasmast analüüdi enda külge. Kompleksile lisatakse sekundaarsed biotinüleeritud detekteerimisantikehad ning streptavidiin-fükoerütriini, et tekiks reaktsioon magnetiliste kerakeste pinnal. Detektsiooniaparaadis ergastab esimene laser erinevalt värvunud magnetiliste kerade fluorestsentsvärvid. Teises laseris aktiveeritakse fluorestsentsvärvi reportermolekuliks olev fükoerütriin. Fluorestsentssignaalist lähtuvalt arvutatakse uuritavate tsütokiinide kontsentratsioonid vereplasmas.

Käesolevas uuringus mõõdeti 33 tsütokiini väärtusi komplekteeritult seitsmes kombinatsioonis:

- 1) Inimese Adipokiini Magnetiliste Kerakeste Paneel 1 adiponektiini, resistiini, PAI-1 mõõtmiseks;
- 2) Inimese Adipokiini Magnetiliste Kerakeste Paneel 2 leptiini mõõtmiseks;
- 3) Inimese Tsütokiini/Kemokiini Magnetiliste Kerakeste Paneeliga IP-10, MCP-1 ja MIP-1 β mõõtmiseks;
- 4) Inimese Kõrge Tundlikkusega T-raku Magnetiliste Kerakeste Paneel GM-CSF, IFN- γ , IL-10, IL-12(P70), IL-13, IL-17A, IL-1 β , IL-2, IL-21, IL-4, IL-23, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8 ja TNF- α mõõtmiseks;
- 5) Inimese Lahustuva Tsütokiini Retspetor Magnetiliste Kerade Paneel sIL-1RI, sIL-2R α ja sTNFRII mõõtmiseks;
- 6) Inimese Th17 Magnetiliste Kerade Paneel IL-17F, IL-15, IL-22 ja IL-27 mõõtmiseks;
- 7) TGF- β 1,2,3 Magnetiliste Kerade Paneel TGF- β 1, TGF- β 2 ja TGF- β 3 aktiivse vormi mõõtmiseks.

Tsütokiine analüüsiti vastavalt tootjapoolsetele juhistele ning olenevalt testikomplektist esines reagentide pealekandmise kogustes ning inkubatsiooniaegades varieeruvust, kuid tööpõhimõte jäi samaks. Alljärgnevalt on toodud Inimese Adipokiini Magnetiliste Kerakeste Paneel 1 tootjapoolne protokoll: enne proovide ja reagentide plaadile kandmist tehti uuritavate patsientide plasmaproovidest analüüsipuhvris lahjendused (1:400), sonikeeriti antikehadega kaetud magnetilised kerakesed, lahjendati standardi proovid viiekümnekordselt realahjenduse meetodil ja lahustati kvaliteedikontrolli proovid. Mitteläbipaistva 96-kannukesega ELISA mikrotiiterplaadi aktiveerimiseks pipeteeriti 200 μ l analüüsipuhvrit igasse kannu, kaeti plaat

kattekilega ning inkubeeriti loksutades 500 rpm 10 minutit. Pärast inkubeerimist eemaldati analüüsipuhver ja koputati plaat kuivaks. Vastavatesse kannudesse pipeteeriti 25 µl standardeid ja kontrolle ning kogu plaat kaeti 25 µl analüüsipuhvriga. Seejärel kanti uuritavate kannudesse 25 µl eelnevalt lahjendatud plasmaproove ja lisati kõikidesse kannudesse 25 µl vorteksil homogeenseks segatud antikehadega seotud magnetilised kerakesed. Pärast seda kaeti plaat kilega, pakiti fooliumisse ning inkubeeriti loksutades 4 °C juures 16-18 tundi. Järgmisel päeval eemaldati kannude sisu ning pesti plaati pesulahusega kolm korda. Seejärel pipeteeriti 50 µl detektsiooni antikehi igasse kannu ja inkubeeriti 1 tundi. Kõik teise päeva inkubatsioonid toimusid toatemperatuuril loksutades 500 rpm. Inkubatsiooni järgselt lisati kannudesse 50 µl streptavidiin-fükoerütriini ning inkubeeriti 30 minutit. Plaati pesti kolm korda, pipeteeriti 100 µl optiliseks vaatluseks vajalikku varjestusvedelikku kõikidesse kannudesse ja inkubeeriti 5 minutit. Pärast seda analüüsiti plaati Luminexi 200™ instrumendil (Luminex Corp., Austin TX, USA) kasutades xMAP Technology tarkvara (Luminex Corp., Austin TX, USA) vastavalt tootja juhistele.

3.6 Statistiline analüüs

Käesoleva magistritöö statistiline analüüs teostati R3.2.0 keelt ja keskkonda kasutades (Free Software Foundation, Boston, USA). Andmete analüüsiks kasutati lineaarset ja logistilist regressioonanalüüsi ning kohandamist seoseid mõjutavatele teguritele. Saadud seoseid kirjeldati vastavalt kas regressiooni kordajana (r) või šansside suhtena (OR). Veel kasutati mitteparameetrilist Welch'i t -testi ja paarisviisilist t -testi, et hinnata gruppide vahelist keskväärtuste erinevust ning χ^2 -testi ja proportsioontesti, et leida uuritavatel kliiniliste näitajate ja autoantikehade levimuste erinevused. Statistiliselt oluliseks loeti erinevusi, mille p -väärtus jäi madalamaks kui 0,05.

4 TULEMUSED

4.1 Kliinilise gestatsioondiabeediga uuritavate kirjeldus

Kliinilise GDM rasedate anamnestiliste ja laboratoorsete andmete võrdlus on esitatud **tabelis 2**, mille alusel eristuvad GDM ja mitte-GDM rasedad teineteisest eelkõige veresuhkrunäitajate poolest. Nimelt, võrreldes mitte-GDM rasedatega, esines GDM uuritavatel raseduse II trimestril kõrgem veresuhkru väärtus paastuseerumis ja glükoosi manustamise järgselt ning kõrgem C-peptiidi tase. Paastuglükoosi keskväärtuste erinevus gruppide vahel säilis ka peale sünnitust, vaatamata sellele, et ühelgi uuritaval ei esinenud sünnitusjärgset veresuhkru väärtuse tõusu üle referentsväärtuse.

Lisaks olid GDM uuritavad uuringusse saabudes keskmiselt 9,5 kuud vanemad. Raseduseelne kehamassiindeks oli neil keskmiselt 2 kg/m² võrra kõrgem, mille tõttu saab öelda, et GDM uuritavad olid enne rasedust ülekaalulised, samas kui võrdlusgrupi naiste kehamassiindeks oli keskmiselt normaalkaalu ja ülekaalu piiril. GDM rasedatel oli raseduseaegne kaaluiive keskmiselt 2,5 kg väiksem kui võrdlusgrupi rasedatel.

GDM grupis oli raseduseaegne CRV tase keskmiselt 5,1 mg/L, mis oli 2,0 mg/L võrra kõrgem võrdlusgrupist. Mitte-GDM rasedate CRV väärtus oli sünnitusjärgselt keskmiselt 1,8 mg/L võrra madalam võrreldes rasedusaegse sama näitaja keskväärtusega. Teiste vaadeldud parameetrite osas erinevust kahe uuritava grupi vahel ei esinenud.

4.2 Gestatsioondiabeedi riskitegurite analüüs

Uuritava vanusele, raseduseelsele kehamassiindeksile, gestatsiooni suurusele ja vereproovi loovutamise aegsele kalendrikuule kohandatud lineaarne regressioonanalüüs näitas, et GDMi haigestumise riski suurendasid: 1) raseduseelne adipoossus (kohandatud OR=2,77; p=0,014 võrreldes raseduseelselt normaalkaaluliste uuritavatega); 2) rasedusaegne C-peptiidi referentsväärtusest kõrgem tase (kohandatud OR=7,27; p=0,044) võrreldes rasedatega, kelle C-peptiidi väärtused oli referentsvahemikus (ehk <1,47 nmol/L) ning 3) rasedusaegne CRV referentsväärtusest (<5 mg/L) kõrgem tase (kohandatud OR=2,65; p=0,011) võrreldes rasedatega, kelle CRV valgu kontsentratsioon veres oli referentsvahemikus.

4.3 Autoantikehade esinemine uuritavatel

Tabelis 4 on esitatud uuritavatel määratud autoantikehad ning nende esinemise sagedused.

Tabel 4. Autoantikehade esinemine uuritavate vereseerumis			
Autoantikeha	Gestatsioondiabeet (N=53)	Võrdlusgrupp (N=197)	Kokku (N=250)
GADA Ig	1 (1,9%; 0,1-11,4)	10 (5,1%; 2,6-9,4)	11 (4,4%; 2,3-8,0)
Anti-ZnT8 IgG	0 (0%; 0-8,4)	4 (2,0%; 0,6-5,5)	4 (1,6%; 0,5-4,3)
IA-2A IgG	0 (0%; 0-8,4)	1 (0,5%; 0-3,2)	1 (0,4%; 0-2,6)
ICA IgG	0 (0%; 0-8,4)	0 (0%; 0-2,4)	0 (0%; 0-1,9)
Vähemalt ühe diabeediga seotud autoantikeha esinemine	1 (1,9%; 0,1-11,4)	14 (7,1%; 4,1-11,9)	15 (6,0%; 3,5-9,9)
Anti-TPO IgG	2 (3,8%; 0,7-14,1)	5 (2,5%; 0,9-6,2)	7 (2,8%; 1,2-5,9)
Vähemalt ühe uuritud autoantikeha esinemine	3 (5,7%; 1,5-16,6)	18 (9,1%; 5,7-14,3)	21 (8,4%; 5,4-12,7)

Sagedaseim diabeediga assotsieeruv autoantikeha oli nii GDMi kui võrdlusgrupi naiste hulgas GADA, millele järgnes anti-ZnT8 ja IA-2A. ICA-i ei leitud ühelgi uuritaval. GDM grupi naised ei erinenud võrdlusgrupi naistest mitte ühegi uuritud diabeedi autoantikeha esinemissageduse poolest. Sarnaselt diabeedi autoantikehadega ei erinenud ka anti-TPO esinemissagedus uuritavate gruppide vahel. Neid detekteeriti seitsmel uuritaval, kellest kaks olid kliinilise GDM diagnoosiga.

4.4 Gestatsioondiabeedi alagruppide kirjeldus

Võttes aluseks lisaks kliiniliselt väljendunud suhkruainevahetuse häirele veel autoimmuunse diabeedi markerid ja parameetrid lipiidide ainevahetusest (triglütseriidide tase veres) ning pankrease insuliini tootmist kajastava C-peptiidi taseme, jaotati kõik uuritavad kolme gruppi – autoimmuunse diabeediga või selle riskiga rasedad (AI-GDM), suhkru- ja lipiidide ainevahetuse häiretega ja insuliinresistentsusele viitav grupp (IR-GDM) ning eelnimetatud parameetrite poolest terved rasedad (võrdlusgrupp) **tabelis 5**.

Tabel 5. AI-GDM, IR-GDM ja võrdlusgrupi jaotuskriteeriumid

Parameeter	AI-GDM	IR-GDM	Võrdlusgrupp
Kliiniline GDMi diagnoos	(ei kohaldu)	jah	(ei kohaldu)
Pankrease spetsiifiline autoantikeha esinemine vereseerumis	jah	ei	ei
Triglütseriidide tase*	(ei kohaldu)	$\geq 2,6$ mmol/L	$< 2,6$ mmol/L
C-peptiidi tase**	(ei kohaldu)	$\geq 1,47$ nmol/L	$< 1,47$ nmol/L
Uuritavate arv	N=15	N=54	N=181

Seerumi triglütseriidide referentsväärtus on 0,45-2,6 mmol/L (*) ja C-peptiidi referentsväärtus on 0,37-1,47 nmol/L (**).

Kolme uuritava grupi kliiniliste parameetrite võrdlus on toodud **tabelis 6**. Vastavalt grupeerimise kriteeriumitele eristusid kolm gruppi veresuhkru väärtuste poolest. Küll aga erinevad paastuglühkoosi väärtused GTT tulemustest eri uuritavate gruppide vahel (**Joonis 3**). Nimelt oli mõlemate GDM alagrupi uuritavate keskmine rasedusaegne paastuglühkoosi tase võrdlusgrupi omadest kõrgem, kuid IR-GDM grupi veresuhkru väärtus oli omakorda kõrgem kui AI-GDM grupil. Paastuglühkoosi keskmiste väärtuste kõrgem tase IR-GDM uuritavatel võrrelduna tervete rasedatega säilis ka sünnitusjärgselt, ehkki mõlema grupi keskvaartused jäid paastuglühkoosi referentsväärtuste vahemikku.

Samas oli GTT testi tulemusena mõõdetud veresuhkru väärtused järgmised: kõige madalam väärtus oli AI-GDM grupis, seejärel tervete rasedate ja kõige kõrgem väärtus esines IR-GDM grupi naistel. Sarnaselt GTT testi veresuhkru väärtustega käitus ka rasedusaegne C-peptiidi tase uuritavate gruppide vahel. Küll aga ei esinenud gruppide vahelist erinevust sünnitusjärgselt C-peptiidi keskvaartuste vahel.

Tabel 6. Uuritavate gruppide AI-GDM, IR-GDM ja võrdlusgrupi kirjeldused

Tunnus	AI-GDM (N=15)	IR-GDM (N=54)	Võrdlusgrupp (N=181)
Raseduse anamnees			
Raseduse suurus uuringu alguses (nädalat + päeva)	26 nädalat 1 päeva (10 päeva)	26 nädalat 4 päeva (11 päeva)	26 nädalat 2 päeva (11 päeva)
Vanus uuringusse tuleku hetkel (aastates)	29,9 (6,38)	31,8 (5,01)#	30,1 (5,35)#
Raseduseelne kehamassiindeks (kg/m ²)	23,1 (3,49)*#	27,3 (5,47)*#	25,3 (4,64)#
Alakaal (<19 kg/m ²)	0 (0%; 0-25,4)	0 (0%; 0-8,3)	4 (2,2%; 0,7-5,9)
Normaalkaal (19-24 kg/m ²)	11 (73,3%; 44,8-91,1)*	18 (33,3%; 21,5-47,6)*	86 (47,5%; 40,1-55,0)
Ülekaal (25-29 kg/m ²)	3 (20,0%; 5,3-48,6)	17 (31,5%; 19,9-45,7)	60 (33,2%; 26,5-40,6)
Adipoosus (30-100 kg/m ²)	1 (6,7%; 0,4-34,0)	19 (35,2%; 23,0-49,5)#	31 (17,1%; 12,1-23,6)#
Ema kroonilised haigused			
Puudusid	11 (73,3%; 44,8-91,1)	30 (55,6%; 41,5-68,8)	117 (64,6%; 57,2-71,5)
Esinesid ¹	4 (26,7%; 8,9-55,2)	24 (44,4%; 31,2-58,5)	61 (33,7%; 27,0-41,1)
Ema ravimite tarbimine raseduse ajal			
Ei tarvitanud	14 (93,3%; 66,0-99,7)	44 (81,5%; 68,1-90,3)	165 (91,2%; 85,8-94,7)
Tarbis ravimeid ²	2 (13,3%; 2,3-41,6)	9 (16,7%; 8,4-29,8)	14 (7,7%; 4,5-12,9)
Raseduseelne viljatusravi vajadus			
Spontaanne rasedus	15 (100%; 74,7-100)	51 (94,4%; 83,7-98,6)	170 (93,9%; 89,1-96,8)
Eelnes viljatusravi	0 (0%; 0-25,4)	3 (5,6%; 1,5-16,3)	5 (2,8%; 1,0-6,7)
Teostati kunstlik viljastamine	0 (0%; 0-25,4)	0 (0%; 0-8,3)	6 (3,3%; 1,4-7,4)
Vererõhu väärtus >140/90 mm/Hg uuringu alguses	1 (6,7%; 0,4-34,0)	11 (20,4%; 11,1-33,9)#	17 (9,4%; 5,7-14,8)#
Süstoolse vererõhu kätevaheline erinevus >10 mm/Hg	7 (46,7%; 22,3-72,6)	19 (35,2%; 23,0-49,5)	45 (24,9%; 18,9-31,9)
Rasedusaegne vereanalüüs			
Hemoglobiin (g/L)	118,5 (8,21)	119,1 (10,93)	117,8 (8,05)
Leukotsüütide hulk (x10 ⁹ /L)	9,0 (1,38)	9,4 (2,26)	8,9 (2,04)
Paastuglukoos (mmol/L)	4,7 (0,39)*	5,1 (0,45)*#	4,5 (0,29)#
60. minuti GTT-testi veresuhkru väärtus (mmol/L)	6,5 (1,76)*	9,5 (1,66)*#	6,8 (1,44)#
120. minuti GTT-testi veresuhkru väärtus (mmol/L)	5,4 (1,38)*	7,6 (1,32)*#	5,7 (1,12)#
C-peptiid (nmol/L)	0,7 (0,34)	0,9 (0,33)#	0,7 (0,19)#
C-reaktiivne valk (mg/L)	2,7 (2,44)*	5,2 (3,17)*#	4,0 (4,12)#
Üle referentsväärtuse ³ (≥5 mg/L)	2 (13,3%; 2,3-41,6)*	27 (50,0%; 37,1-62,9)*#	46 (25,4%; 19,4-32,5)#
D-vitamiin (nmol/L)	52,4 (21,39)	58,2 (33,36)	55,1 (23,22)
Alla referentsväärtuse ³ (≤75 nmol/L)	12 (80,0%; 51,4-94,7)	38 (70,4%; 56,2-81,6)	146 (80,7%; 74,0-86,0)

(Tabel 6. järg)

Tunnus	AI-GDM (N=15)	IR-GDM (N=54)	Võrdlusgrupp (N=181)
D-vitamiini puudulikkus ⁴ (≤ 30 nmol/L)	4 (26,7%; 8,9-55,2)	14 (25,9%; 15,4-39,9)	32 (17,7%; 12,6-24,2)
Foolhappe väärtus (nmol/L)	21,3 (9,52)	27,3 (15,57)	23,4 (12,79)
Raseduseaegne kaalukiire (kg)	16,4 (6,70)	13,1 (5,73)#	15,6 (6,43)#
Rasedusaegsed komplikatsioonid ⁷	1 (7,7%; 0,4-37,9)	12 (26,7%; 15,1-42,2)	37 (25,2%; 18,5-33,1)
Sünnituse anamnees			
Raseduse suurus sünnitusel (nädalat + päeva)	39 nädalat 3 päeva (8 päeva)	39 nädalat 3 päeva (11 päeva)	39 nädalat 6 päeva (10 päeva)
Sünnituse viis			
Loomulik sünnitus	12 (92,3%; 62,1-99,6)	34 (75,6%; 60,1-86,6)	109 (74,2%; 66,2-80,9)
Sekutud sünnitus ⁶	1 (7,7%; 0,4-37,9)	11 (24,4%; 13,4-39,9)	38 (25,9%; 19,2-33,8)
Sündinud lapse sugu			
Poeglapsed	6 (46,2%; 20,4-73,9)	28 (62,2%; 46,5-75,8)	85 (57,8%; 49,4-65,8)
Tütarlapsed	7 (53,8%; 26,1-79,6)	17 (37,8%; 24,2-53,5)	62 (42,2%; 34,2-50,6)
Makrosoomse lapse sünd	1 (7,7%; 0,4-37,9)	2 (4,4%; 0,8-16,4)	15 (10,2%; 6,0-16,6)
Apgari hinne			
1. eluminutil ≤ 7	0 (0%; 0-28,3)	6 (13,3%; 5,5-27,5)	19 (12,9%; 8,2-19,7)
5. eluminutil ≤ 7	0 (0%; 0-28,3)	2 (4,4%; 0,8-16,4)	9 (6,1%; 3,0-11,6)
Lapse diagnoosid 0.-3. elupäeval			
Terve	10 (76,9%; 46,0-93,8)	35 (77,%; 62,5-88,3)	110 (74,8%; 66,8-81,5)
Kohanemishäired ⁷	2 (15,4%; 2,7-46,3)	2 (4,4%; 0,8-16,4)	12 (8,2%; 4,5-14,1)
Muud diagnoosid ⁸	1 (7,7%; 0,4-37,9)	8 (17,8%; 8,5-32,6)	24 (16,3%; 10,9-23,5)
Sünnitusjärgse perioodi anamnees			
Sünnitusest möödunud aeg (kuudes)	2,7 (0,85)	3,2 (2,06)#	2,5 (2,15)#
Vererõhu väärtus $>140/90$ mm/Hg	0 (0%; 0-28,3)	8 (17,8%; 8,5-32,6)	17 (11,6%; 7,1-18,1)
Süstoolse vererõhu kätevaheline erinevus >10 mm/Hg	3 (23,1%; 6,2-54,0)	10 (23,1%; 11,7-37,5)	53 (36,1%; 28,4-44,4)
Paastuglukoos (mmol/L)	4,8 (0,43)	4,9 (0,51)#	4,7 (0,51)#
C-peptiid (nmol/L)	0,7 (0,21)	0,7 (0,33)	0,7 (0,28)
C-reaktiivne valk (mg/L)	1,5 (1,66)*	4,4 (5,72)*#	2,2 (2,05)#
Üle referentsväärtuse ³ (≥ 5 mg/L)	1 (7,7%; 0,4-37,9)	9 (20,0%; 10,1-35,1)	18 (12,3%; 7,7-19,0)
Kolesterool (mmol/L)	4,8 (0,93)	5,3 (1,07)	5,3 (0,90)
HDL-kolesterool (mmol/L)	1,7 (0,50)	1,8 (0,58)	1,8 (0,45)
LDL-kolesterool (mmol/L)	2,9 (0,85)	3,3 (0,99)	3,3 (0,84)
Triglütseriidid (mmol/L)	0,9 (0,45)	0,9 (0,52)	0,9 (0,40)

(Tabel 6. järg)

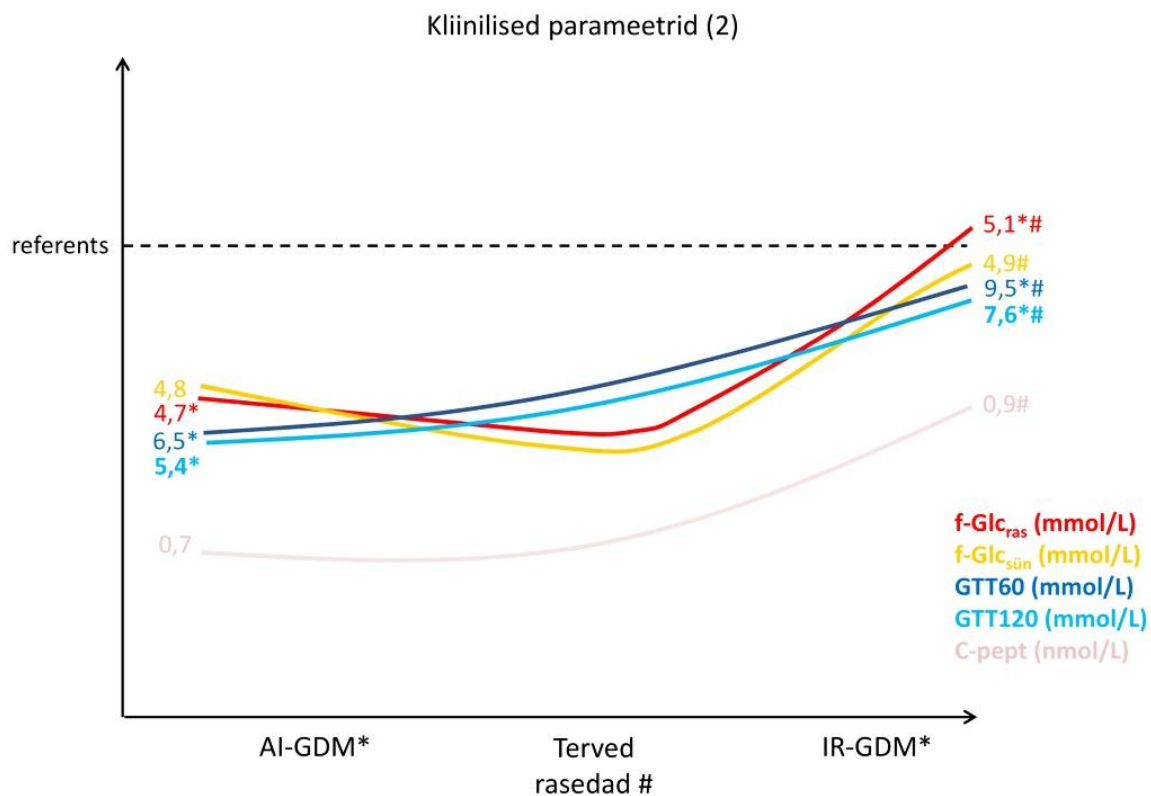
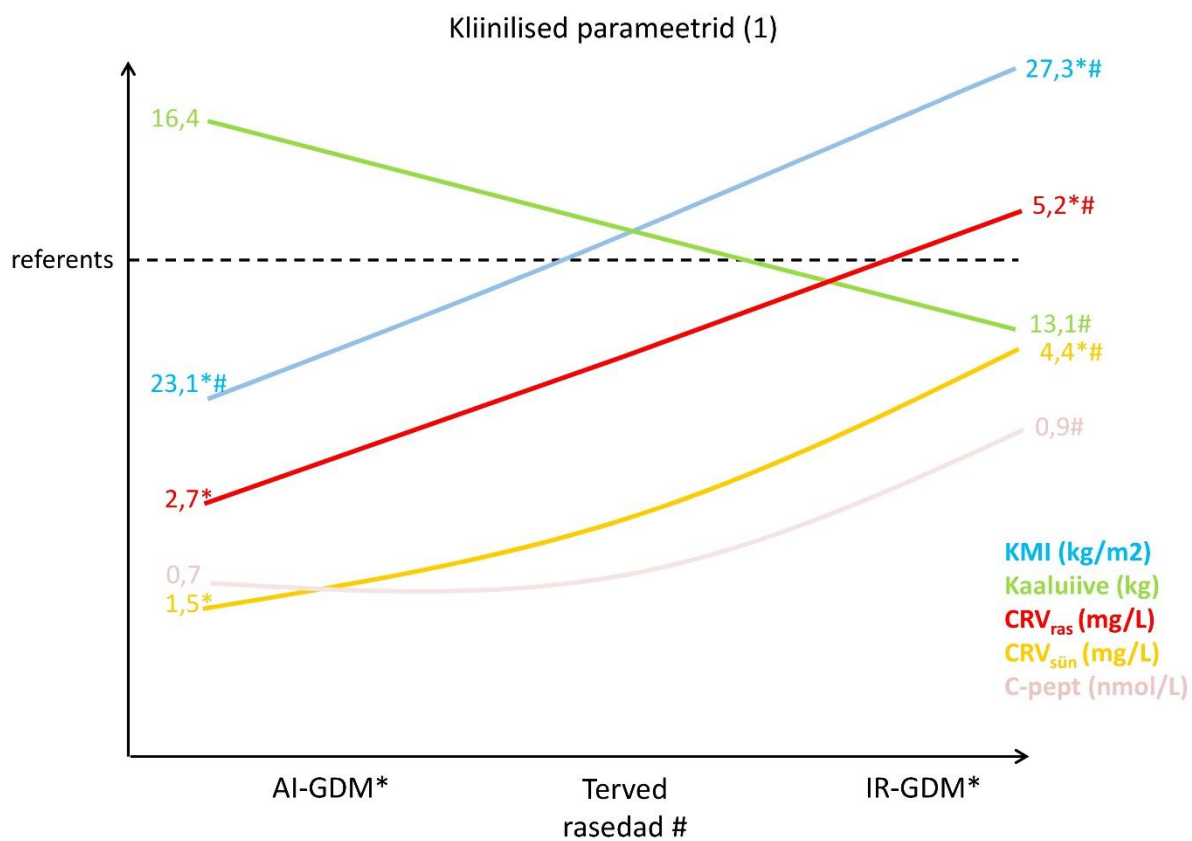
Tunnus	AI-GDM (N=15)	IR-GDM (N=54)	Võrdlusgrupp (N=181)
Üle referentsväärtuse ³ ($\geq 2,6$ mmol/L)	0 (0%; 0-28,3)	2 (4,4%; 0,8-16,4)	0 (0%; 0-3,2)

1 – krooniliste haiguste hulka loeti autoimmuunse türeoidiidi, trombotsütopeeniat, bronhiaalastma, gluteenitalumatuse, endometrioosi, sarkoidoosi või reuma esinemine anamneesis, kardiomiopaatiad, põetud müokardiit või südame rütmihäired, laktoositalumatust, polütsüstiliste ovaariumide sündroomi, epilepsiat, adipoossust, migreeni või magediabeeti; 2 – rasedusaegselt tarvitatud ravimite hulgas esines asendusravi kilpnäärme hormooniga, kõrgvererõhuravimeid, verehüübimist vähendavad ravimid, epilepsiaravimid, magediabeedi ravimid või immuunsupressandid; 3 – SA TÜK Ühendlabori referentsväärtus; 4 – D-vitamiini puudulikkus veres (Nordic Council of Ministers, 2008); 5 – rasedusaegsete komplikatsioonide alla loeti ähvardav raseduse katkemise või enneaegse sünnituse esinemist, preeklampsia või rasedusaegse hüpertensiooni esinemist; 6 – sekkunud sünnituse hulka loeti sünnituse lõpetamist vaakumekstraktsiooni, plaanilise või erakorralise keisrilõike teel; 7 – kohanemishäiretega vastündinute hulka loeti, kui lapsel esines makrosomia, hüpoglükeemia või vajas laps intensiivravi sünnijärgselt; 8 – muude lapse sünnihetke haiguste hulka loeti reesuskonflikti, hüpotoofiat, enneaegsust, hüpoksiat, infektsiooni või hüperbilirubineemiat. Parameetrilised tunnused on esitatud keskvaartustena (standardhälve) ja analüüsitud kasutades Welch'i t-testi, mitteparameetrilised tunnused on absoluutarvudena (protsent koos 95% usaldusvahemikuga) ja analüüsitud proportsioontestiga; **Rõhutatud kirjas** on märgitud statistiliselt oluline erinevus ($p < 0,05$) võrdlusgrupist (#) või võrreldes omavahel AI-GDM ja IR-GDM (*).

Raseduseelne KMI oli AI-GDM patsientidel oluliselt väiksem kui tervetel rasedatel, kelle keskmine KMI väärtus ($25,3 \text{ kg/m}^2$) jäi normkaalu ja ülekaalu piirile. Oli ootuspärane, et kõikidest uuritavatest olid kõrgeima raseduseelse KMIga IR-GDM uuritavad. Ligikaudu kolmveerand AI-GDM uuritavatest olid normaalkaalulised ja ülekaalulisi oli kokku veerand, samas kui IR-GDM uuritavate hulgas jaotusid normkaalulised naised vs. ülekaalulised (sh. adipoossed) vastavalt 1/3 ja 2/3. Rasedusaegse kaaluübe alusel järjestusid uuritavate grupid vastupidiselt KMI väärtusele, nimelt kõige kõrgema KMI-ga IR-GDM grupi naised võtsid raseduse ajal kõige vähem kaalust juurde ja vastupidi, kõige saledamad AI-GDM naised võtsid kõige rohkem kaalust juurde. Täpsemalt oli IR-GDM rasedatel rasedusaegne kaaluübe keskmiselt 2 kg väiksem kui võrdlusgrupi rasedatel ning AI-GDM naistel keskmiselt 2,2 kg suurem kui võrdlusgrupi naistel.

AI-GDM grupis sünnitas 92,3% naistest oma lapse loomulikult teel, mis oli oluliselt suurem kui loomulikult teel sünnitanute naiste hulk IR-GDM grupis või võrdlusgrupis.

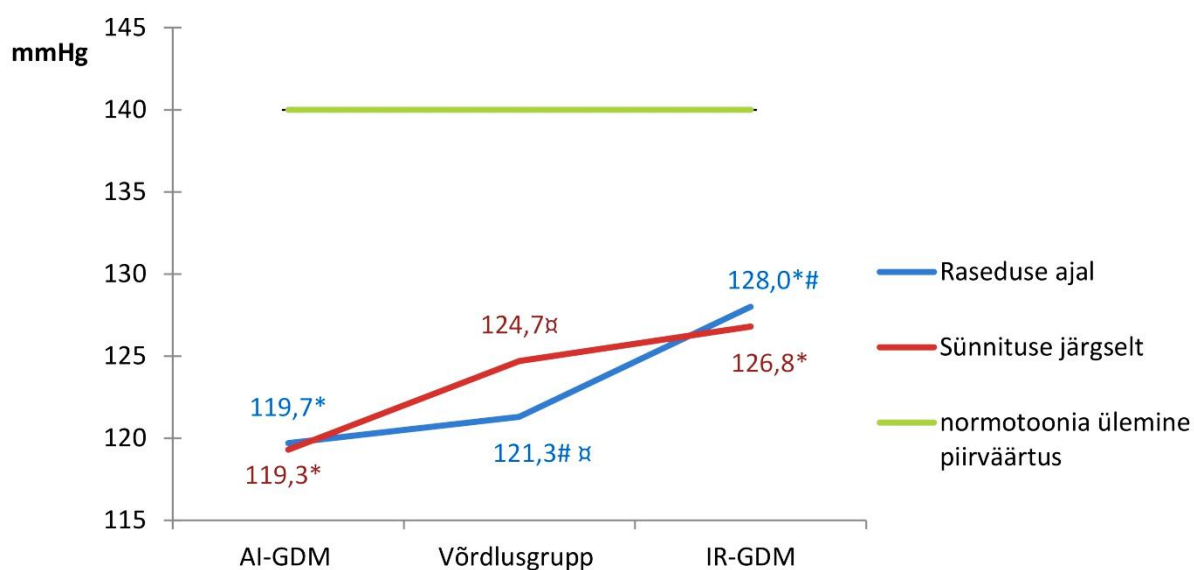
Kolm uuritavat gruppi järjestusid CRV taseme poolest nii raseduse ajal kui ka sünnitusjärgsel perioodil järgmiselt: kõige kõrgemad CRV väärtused olid IR-GDM grupis, millele järgnes võrdlusgrupp ja kõige madalam CRV tase oli iseloomulik AI-GDM grupile. Samas on märkimisväärne, et IR-GDM grupi keskmine CRV tase oli 5,3 mg/L, ulatudes vaid 0,3 mg/L võrra üle referentsväärtuse ülemisest piirist.



Joonis 3. Kliiniliste parameetrite profiilide erinevused GDM alagruppide ja võrdlusgrupi naiste vahel. Esitatud on tabelist 6 pärinevate andmete keskväärtsused iga parameetri referentsväärtuse suhtes: kehamassi indeks enne rasedust (KMI) – 25,0 kg/m², kaaluiive raseduse ajal – 15 kg (Institute of

Medicine, 1990), paastuglühkoos raseduse ajal (f-Glc ras) - $<5,1$ mmol/L, paastuglühkoos peale sünnitust (f-Glc sün) - $<6,1$ mmol/L, C-reaktiivne valk (CRV) nii raseduse ajal kui peale sünnitust - <5 mg/L, glühkoosi taluvuse testi (GTT) 60.min veresuhkur - $\leq 10,0$ mmol/L, GTT 120.min veresuhkur - $\leq 8,5$ mmol/L, C-peptiid - $\leq 1,47$ nmol/L. Statistiliselt oluline erinevus (Welch'i t-test, $p < 0,05$) võrdlusgrupist (#) või võrreldes omavahel AI-GDM ja IR-GDM (*).

Kõige enam rasedusaegse normist kõrgema vererõhu väärtustega uuritavaid oli IR-GDM grupis (20,4%) ja kõige vähem AI-GDM grupis (vaid 1 uuritav, so. 6,7%) ning võrdlusgrupi naised jäid vastava näitaja poolest kahe eelneva grupi vahepeale. **Joonisel 4** on toodud kahe käe keskmise süstoolse arteriaalse vererõhu keskväärtused uuritavate gruppide vahel raseduse ajal ja peale sünnitust.



Joonis 4. Kahe käe keskmise süstoolse arteriaalse vererõhu väärtuse keskväärtuste võrdlus uuritavate gruppide vahel. $p < 0,05$ võrreldes väärtusi raseduse ajal ja peale sünnitust (x, paaris t-test), võrreldes omavahel gruppe AI-GDM ja IR-GDM (*, mitteparameetriline Welch'i t-test) ja võrdlusgrupiga (#, mitteparameetriline Welch'i t-test).

Joonisel 4 on näha, et AI-GDM naistel on nii rasedusaegne kui sünnitusjärgne arteriaalne vereõhu väärtus oluliselt madalam, kui IR-GDM uuritavatel, samas kui terved rasedad naised jäävad nimetatud parameetri osas kahe GDM alagrupi vahele. Veel on näha, et kui tervetel naistel on rasedusaegne arteriaalne vererõhu väärtus oluliselt madalam, kui sünnitusjärgne väärtus, siis mõlemal GDM alagrupi uuritavatel oli raseduse aegne ja sünnituse järgne arteriaalse vererõhu väärtus keskmiselt sama.

Teiste kliiniliste parameetrite osas uuritava grupid teineteisest ei erinenud (**Tabel 6**).

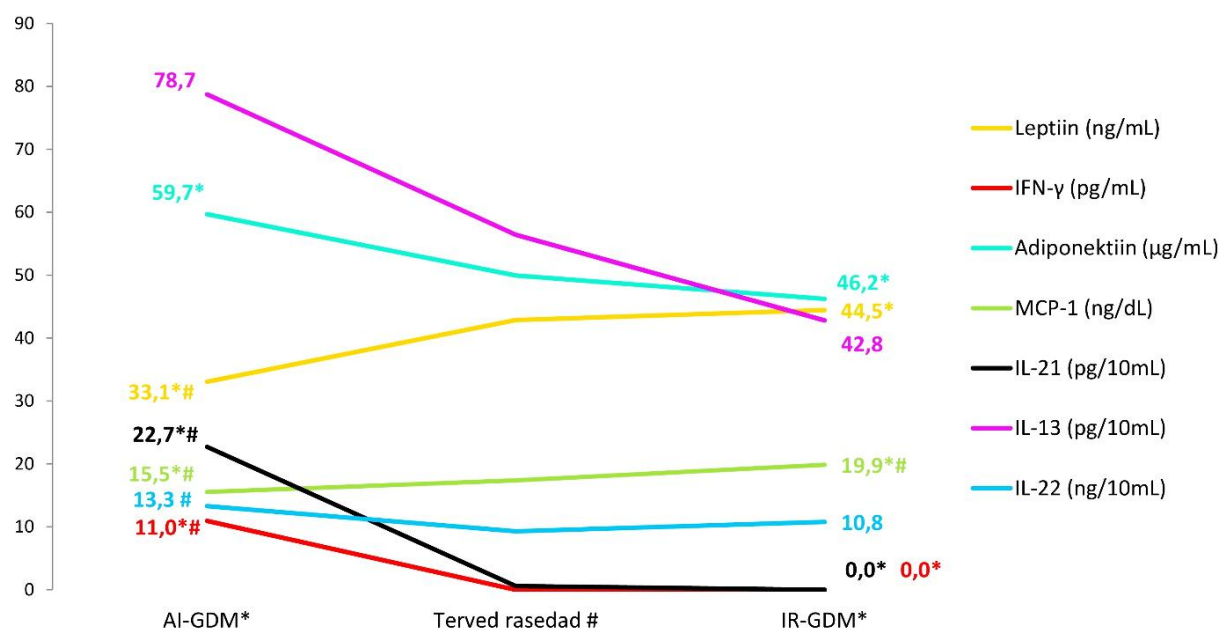
4.5 Immuunsüsteemi markerite võrdlus AI-GDM, IR-GDM ja võrdlusgrupi vahel

Tsütokiinide ja anti-TPO väärtuste erinevus uuritavate gruppide vahel on esitatud **tabelis 7** ja hinnati lineaarse regressioonanalüüsiga, mis oli kohandatud aastaajale ning naise rasedussuurusele, mil analüüs võeti.

Tabelis 8 on esitatud immuunmarkerite seosed raseduseaegsete parameetritega, mida hinnati lineaarse regressioonanalüüsiga kohandatuna raseduse suurusele, uuritava vanusele, aastaajale, ema KMIle enne rasedust, ema haiguste esinemisele ning oodatava lapse soole. Analüüs viidi läbi tervete rasedate grupis. **Tabel 9** võtab kokku immuunmarkerite seosed suhkru- ja lipiidide ainevahetusparameetritega ning rasedustulemustega, mida hinnati lineaarse regressioonanalüüsiga kohandatuna aastaajale ja raseduse suurusele immuunmarkerite määramise hetkel.

4.5.1 Adipokiinid

Tabelist 7 selgub, et adipokiinide tasemete poolest positsioneeruvad terved rasedad kahe GDM alagrupi vahele. AI-GDM eristub madalate leptiini ja MCP-1 tasemete poolest ning kõrgemate adiponektiini ja IFN- γ poolest. IR-GDM grupis on nimetatud tsütokiinide tasemed vastupidised (**Joonis 5**).



Joonis 5: Plasma tsütokiinide profiili erinevused GDM alagruppide ja võrdlusgrupi vahel. Tsütokiinide tase on arvutatud Tabelis 7 esitatud kohandatud lineaarse regressiooni tulemustest. * $p < 0,05$ võrrelduna omavahel grupe AI-GDM ja IR-GDM (*) ja tervete rasedate võrdlusgrupiga (#).

Tabel 7. Tsütokiinide ja anti-TPO autoantikehade tasemete võrdlus GDM alagruppide ja võrdlusgrupi uuritavate vahel

Tunnus	GDM-IR vs GDM-AI	AI-GDM		IR-GDM		Võrdlusgrupp
	Regressioonikordaja ¹ (p-väärtus)	Keskmine (SD)	Regressioonikordaja ² (p-väärtus)	Keskmine (SD)	Regressioonikordaja ² (p-väärtus)	Keskmine (SD)
Adipokiinid						
Leptiin (ng/mL)	11,38 (p=0,036)	20,6 (14,62)	-9,78 (p=0,036)	30,8 (13,27)	1,60 (p=0,529)	29,4 (16,42)
IL-1β (pg/mL)	0,02 (p=0,931)	0,7 (0,59)	-0,02 (p=0,931)	0,7 (0,81)	-0,01 (p=0,944)	0,7 (0,68)
IL-6 (pg/mL)	0,10 (p=0,714)	0,9 (0,75)	-0,04 (p=0,869)	1,0 (1,04)	0,06 (p=0,675)	0,9 (0,75)
IFN-γ (pg/mL)	-13,33 (p<0,001)	22,3 (19,1)	11,00 (p<0,001)	7,9 (6,75)	-2,33 (p=0,119)	11,6 (8,89)
TNF-α (pg/mL)	0,67 (p=0,188)	1,8 (1,42)	-0,53 (p=0,264)	2,4 (2,00)	0,14 (p=0,585)	2,3 (1,45)
Resistiin (ng/mL)	18,39 (p=0,642)	41,5 (17,94)	10,76 (p=0,758)	65,2 (232,68)	29,14 (p=0,128)	34,4 (17,68)
Adiponektiin (μg/mL)	-13,47 (p=0,031)	34,7 (39,99)	9,74 (p=0,093)	20,0 (21,30)	-3,73 (p=0,239)	24,2 (15,98)
PAI-1 (ng/mL)	3,78 (p=0,587)	28,1 (11,31)	0,34 (p=0,959)	31,7 (37,30)	4,12 (p=0,246)	27,2 (13,56)
TGF-β1 (ng/mL)	3,28 (p=0,272)	7,7 (5,96)	-4,18 (p=0,133)	9,7 (7,67)	-0,90 (p=0,556)	10,7 (10,43)
TGF-β2 (ng/mL)	0,20 (p=0,160)	0,5 (0,24)	-0,22 (p=0,093)	0,7 (0,37)	-0,02 (p=0,758)	0,7 (0,50)
TGF-β3 (pg/mL)	-48,34 (p=0,444)	110,2 (75,82)	68,36 (p=0,245)	73,0 (176,21)	20,01 (p=0,534)	50,8 (213,31)
MCP-1 (pg/mL)	43,23 (p=0,041)	144,6 (46,38)	-19,08 (p=0,331)	194,2 (67,30)	24,16 (p=0,025)	168,6 (70,18)
Põletikureaktsioone reguleerivad tsütokiinid						
sIL-1RI (pg/mL)	3,78 (p=0,800)	0 (0)	-6,78 (p=0,625)	10,5 (28,93)	-3,00 (p=0,693)	12,1 (55,06)
IL-12 (pg/mL)	-0,66 (p=0,362)	3,2 (1,64)	0,66 (p=0,362)	2,8 (2,87)	-0,00 (p=0,998)	2,7 (2,35)
sTNFRII (ng/mL)	0,22 (p=0,739)	7,9 (2,36)	-0,07 (p=0,903)	8,5 (2,09)	0,14 (p=0,666)	8,2 (2,01)
IL-17A (pg/mL)	-3,75 (p=0,564)	8,5 (6,75)	0,24 (p=0,968)	4,9 (5,12)	-3,51 (p=0,290)	8,6 (24,23)
IL-17F (pg/mL)	-0,01 (p=0,378)	0,1 (0,05)	0,02 (p=0,096)	0,0 (0,05)	0,01 (p=0,189)	0,0 (0,04)

(Tabel 7. järg)

Tunnus	GDM-IR vs GDM-AI	AI-GDM		IR-GDM ²		Võrdlusgrupp
	Regressioonikordaja ¹ (p-väärtus)	Keskmine (SD)	Regressioonikordaja ² (p-väärtus)	Keskmine (SD)	Regressioonikordaja ² (p-väärtus)	Keskmine (SD)
IL-21 (pg/mL)	-2,41 (p=0,004)	3,3 (7,42)	2,21 (p=0,004)	0,7 (1,01)	-0,20 (p=0,632)	1,0 (2,17)
IL-23 (pg/mL)	-39,86 (p=0,333)	143,6 (109,54)	53,31 (p=0,165)	114,4 (149,96)	13,45 (p=0,522)	98,6 (123,83)
IL-10 (pg/mL)	3,24 (p=0,428)	3,6 (3,15)	-1,52 (p=0,690)	6,8 (20,85)	1,72 (p=0,408)	4,9 (8,73)
IL-27 (ng/mL)	-8,25 (p<0,001)	17,2 (9,44)	5,50 (p=0,007)	8,5 (5,44)	-2,75 (p=0,014)	11,1 (7,59)
Lümfotsüütide regulatsioonis osalevad tsütokiinid						
IL-2 (pg/mL)	-0,42 (p=0,676)	1,1 (2,09)	0,23 (p=0,806)	0,9 (1,03)	-0,19 (p=0,711)	1,0 (3,66)
sIL-2Rα (pg/mL)	-39,65 (p=0,688)	803,2 (455,32)	95,43 (p=0,298)	793,5 (335,07)	55,78 (p=0,268)	732,3 (288,73)
IL-4 (pg/mL)	2,49 (p=0,110)	0,1 (0,21)	-1,86 (p=0,199)	2,1 (5,77)	0,63 (p=0,426)	1,5 (4,81)
IL-5 (pg/mL)	-0,31 (p=0,406)	2,0 (1,81)	0,15 (p=0,651)	1,6 (1,08)	-0,15 (p=0,420)	1,7 (1,16)
IL-13 (pg/mL)	-3,59 (p=0,064)	9,2 (7,83)	2,23 (p=0,215)	4,6 (5,10)	-1,36 (p=0,169)	6,1 (6,34)
IL-15 (pg/mL)	-15,35 (p=0,276)	69,0 (56,67)	15,79 (p=0,228)	47,3 (38,67)	0,44 (p=0,951)	47,3 (45,89)
IL-22 (ng/mL)	-0,00 (p=0,161)	1,3 (0,70)	0,40 (p=0,020)	0,9 (0,65)	0,15 (p=0,126)	0,8 (0,60)
Kemokiinid						
IP-10 (pg/mL)	-19,51 (p=0,843)	426,8 (139,47)	85,70 (p=0,351)	437,4 (296,79)	66,2 (p=0,189)	363,1 (329,39)
MIP-1β (pg/mL)	-2,99 (p=0,661)	23,7 (21,80)	4,92 (p=0,438)	20,5 (28,38)	1,93 (p=0,579)	18,3 (18,57)
IL-8 (pg/mL)	-0,95 (p=0,554)	2,8 (2,08)	-0,17 (p=0,910)	2,1 (1,25)	-1,12 (p=0,172)	3,3 (5,98)
Hematopoeesi stimuleerivad tsütokiinid						
GM-CSF (pg/mL)	3,77 (p=0,756)	31,5 (15,83)	-1,35 (p=0,905)	35,6 (55,38)	2,42 (p=0,695)	32,3 (31,36)
IL-7 (pg/mL)	0,11 (p=0,877)	2,3 (2,15)	-0,12 (p=0,846)	2,2 (2,37)	-0,02 (p=0,958)	2,3 (2,10)
Autoantikehad						
Anti-TPO (IU/mL)	-11,61 (p=0,158)	16,9 (51,51)	9,79 (p=0,194)	8,1 (20,40)	-1,82 (p=0,672)	9,3 (26,54)

Tsütokiinide taseme erinevusi uuritavate gruppide vahel hinnati lineaarse regressioonanalüüsiga kohandatud aastaajale ning rasedussuurusele verevõtu ajal. 1 – regressiooni kordaja näitab tsütokiinide taseme erinevust IR-GDM uuritavate hulgas võrrelduna AI-GDM uuritavatega, 2 – regressioonikordaja võrreldes võrdlusgrupiga. **Rõhutatud kirjas** on märgitud statistiliselt oluline väärtus, $p < 0,05$.

Tabel 8. Tervete rasedate naiste tsütokiinide ja anti-TPO autoantikehade sõltuvus aastaajast ja raseduse parameetritest

Tunnus	Regressioonikordaja (p-väärtus)							
	Kevad-kuud ¹	Suvekuud ¹	Sügiskuu ¹	Raseduse suurus ² (nädalates)	Naise vanus ³ (aastates)	Raseduseelne kehamassiindeks ⁴ (kg/m ²)	Ema haigused ⁵	Lapse sugu ⁶
Adipokiinid								
Leptiin (ng/mL)	-4,09 (p=0,187)	-9,97 (p=0,007)	-4,48 (p=0,194)	-0,07 (p=0,918)	-0,20 (p=0,371)	2,13 (p<0,001)	-1,99 (p=0,406)	2,66 (p=0,254)
IL-1β (pg/mL)	0,05 (p=0,760)	0,15 (p=0,432)	0,11 (p=0,544)	-0,01 (p=0,753)	0,00 (p=0,948)	-0,02 (p=0,140)	0,02 (p=0,854)	0,03 (p=0,816)
IL-6 (pg/mL)	-0,31 (p=0,076)	-0,24 (p=0,239)	0,01 (p=0,950)	0,07 (p=0,105)	-0,01 (p=0,438)	0,01 (p=0,500)	0,03 (p=0,822)	0,11 (p=0,399)
IFN-γ (pg/mL)	-2,69 (p=0,192)	-6,80 (p=0,005)	-5,15 (p=0,026)	-0,02 (p=0,950)	0,07 (p=0,611)	-0,08 (p=0,631)	-0,22 (p=0,891)	-0,52 (p=0,734)
TNF-α (pg/mL)	-0,40 (p=0,240)	0,10 (p=0,793)	-0,55 (p=0,145)	0,11 (p=0,151)	0,02 (p=0,506)	-0,00 (p=0,940)	-0,20 (p=0,447)	0,11 (p=0,667)
Resistiin (ng/mL)	0,46 (p=0,910)	-11,27 (p=0,018)	-8,20 (p=0,069)	-0,04 (p=0,969)	-0,13 (p=0,655)	0,25 (p=0,460)	1,82 (p=0,557)	-2,62 (p=0,386)
Adiponektiin (μg/mL)	1,24 (p=0,729)	-0,27 (p=0,948)	-7,23 (p=0,072)	-1,57 (p=0,061)	-0,25 (p=0,344)	-0,94 (p=0,002)	1,91 (p=0,491)	-2,52 (p=0,349)
PAI-1 (ng/mL)	-5,03 (p=0,099)	-9,13 (p=0,012)	-9,33 (p=0,007)	0,91 (p=0,201)	-0,08 (p=0,716)	-0,01 (p=0,968)	1,31 (p=0,577)	-4,21 (p=0,045)
TGF-β1 (ng/mL)	-5,76 (p=0,016)	-4,45 (p=0,110)	-8,61 (p=0,001)	0,33 (p=0,553)	0,08 (p=0,647)	-0,13 (p=0,521)	-0,29 (p=0,876)	-2,19 (p=0,216)
TGF-β2 (ng/mL)	-0,33 (p=0,004)	-0,09 (p=0,498)	-0,32 (p=0,013)	0,02 (p=0,455)	0,00 (p=0,832)	-0,00 (p=0,700)	-0,04 (p=0,674)	-0,04 (p=0,683)
TGF-β3 (pg/mL)	29,54 (p=0,555)	55,99 (p=0,340)	-14,87 (p=0,789)	10,99 (p=0,344)	-0,56 (p=0,876)	-3,38 (p=0,417)	-46,04 (p=0,233)	31,99 (p=0,394)
MCP-1 (pg/mL)	-13,96 (p=0,361)	-13,38 (p=0,454)	46,68 (p=0,007)	0,81 (p=0,818)	1,63 (p=0,138)	4,25 (p=0,001)	3,46 (p=0,768)	6,33 (p=0,580)
sIL-1RI (pg/mL)	-1,20 (p=0,925)	21,06 (p=0,160)	28,32 (p=0,047)	4,07 (p=0,169)	-0,85 (p=0,353)	-0,37 (p=0,730)	-4,92 (p=0,616)	3,3 (p=0,731)

(Tabel 8. järg)

Tunnus	Regressioonikordaja (p-väärtus)							
	Kevad-kuud ¹	Suvekuud ¹	Sügiskuu ¹	Raseduse suurus ² (nädalates)	Naise vanus ³ (aastates)	Raseduseelne kehamassiindeks ⁴ (kg/m ²)	Ema haigused ⁵	Lapse sugu ⁶
Põletikureaktsioone reguleerivad tsütokiinid								
IL-12 (pg/mL)	0,09 (p=0,871)	0,58 (p=0,361)	0,30 (p=0,624)	0,25 (p=0,049)	-0,03 (p=0,519)	-0,01 (p=0,792)	0,09 (p=0,832)	0,49 (p=0,236)
sTNFRII (ng/mL)	0,28 (p=0,546)	0,82 (p=0,124)	0,50 (p=0,322)	0,25 (p=0,018)	-0,02 (p=0,548)	0,05 (p=0,194)	-0,71 (p=0,045)	-0,24 (p=0,487)
IL-17A (pg/mL)	4,42 (p=0,437)	3,93 (p=0,555)	1,34 (p=0,833)	-1,70 (p=0,197)	0,01 (p=0,975)	-0,81 (p=0,089)	-2,78 (p=0,525)	-4,80 (p=0,262)
IL-17F (pg/mL)	-0,02 (p=0,066)	-0,03 (p=0,004)	-0,04 (p=0,001)	-0,00 (p=0,589)	0,00 (p=0,487)	0,00 (p=0,696)	0,00 (p=0,786)	0,01 (p=0,111)
IL-21 (pg/mL)	-0,70 (p=0,164)	-1,23 (p=0,038)	-1,18 (p=0,036)	0,01 (p=0,953)	0,01 (p=0,728)	-0,03 (p=0,442)	-0,19 (p=0,608)	0,73 (p=0,055)
IL-23 (pg/mL)	1,64 (p=0,953)	84,71 (p=0,011)	-12,44 (p=0,689)	4,08 (p=0,529)	1,25 (p=0,534)	-1,81 (p=0,435)	21,53 (p=0,319)	36,76 (p=0,082)
IL-10 (pg/mL)	-2,64 (p=0,198)	-1,61 (p=0,500)	1,23 (p=0,589)	0,60 (p=0,199)	-0,24 (p=0,095)	-0,09 (p=0,580)	-1,06 (p=0,497)	1,28 (p=0,399)
IL-27 (ng/mL)	2,81 (p=0,084)	-3,98 (p=0,037)	-5,55 (p=0,002)	0,42 (p=0,260)	-0,11 (p=0,325)	-0,08 (p=0,536)	0,64 (p=0,605)	-0,58 (p=0,631)
Lümfotsüütide regulatsioonis osalevad tsütokiinid								
IL-2 (pg/mL)	-0,00 (p=0,998)	0,09 (p=0,926)	1,74 (p=0,066)	0,20 (p=0,305)	0,06 (p=0,343)	-0,01 (p=0,343)	-0,64 (p=0,327)	0,72 (p=0,261)
sIL-2Ra (pg/mL)	-34,55 (p=0,591)	78,01 (p=0,302)	143,56 (p=0,047)	11,17 (p=0,454)	-0,15 (p=0,974)	9,87 (p=0,067)	-82,44 (p=0,098)	16,09 (p=0,739)
IL-4 (pg/mL)	-2,41 (p=0,029)	-1,78 (p=0,167)	-2,75 (p=0,025)	0,04 (p=0,878)	0,06 (p=0,481)	-0,06 (p=0,544)	1,87 (p=0,028)	0,65 (p=0,428)
IL-5 (pg/mL)	-0,60 (p=0,019)	-0,48 (p=0,111)	-0,27 (p=0,348)	0,04 (p=0,480)	0,01 (p=0,752)	-0,00 (p=0,844)	-0,11 (p=0,576)	0,35 (p=0,067)
IL-13 (pg/mL)	-3,36 (p=0,018)	-4,87 (p=0,004)	-4,63 (p=0,004)	-0,03 (p=0,938)	0,09 (p=0,389)	-0,01 (p=0,943)	-1,04 (p=0,337)	0,95 (p=0,369)

(Tabel 8. järg)

Tunnus	Regressioonikordaja (p-väärtus)							
	Kevad-kuud ¹	Suvekuud ¹	Sügiskuu ¹	Raseduse suurus ² (nädalates)	Naise vanus ³ (aastates)	Raseduseelne kehamassiindeks ⁴ (kg/m ²)	Ema haigused ⁵	Lapse sugu ⁶
IL-15 (pg/mL)	-12,64 (p=0,229)	-32,67 (p=0,009)	-31,24 (p=0,008)	-1,00 (p=0,681)	-0,86 (p=0,255)	0,47 (p=0,587)	2,03 (p=0,802)	4,85 (p=0,538)
IL-22 (ng/mL)	-0,16 (p=0,232)	-0,48 (p=0,003)	-0,23 (p=0,134)	-0,02 (p=0,589)	0,01 (p=0,515)	0,01 (p=0,230)	0,01 (p=0,888)	0,14 (p=0,159)
Kemokiinid								
IP-10 (pg/mL)	-34,04 (p=0,650)	39,94 (p=0,649)	118,15 (p=0,158)	33,16 (p=0,058)	4,50 (p=0,405)	11,32 (p=0,071)	-49,58 (p=0,391)	96,28 (p=0,088)
MIP-1β (pg/mL)	-6,61 (p=0,091)	-5,75 (p=0,209)	-5,70 (p=0,190)	0,50 (p=0,580)	0,02 (p=0,948)	0,38 (p=0,244)	2,38 (p=0,427)	0,35 (p=0,904)
IL-8 (pg/mL)	0,93 (p=0,509)	1,49 (p=0,365)	1,79 (p=0,253)	-0,19 (p=0,554)	-0,02 (p=0,855)	-0,22 (p=0,058)	-0,32 (p=0,767)	-0,61 (p=0,565)
Hematopoeesi stimuleerivad tsütokiinid								
GM-CSF (pg/mL)	2,70 (p=0,677)	-2,56 (p=0,737)	6,84 (p=0,344)	1,06 (p=0,480)	-0,30 (p=0,525)	-0,06 (p=0,910)	1,38 (p=0,783)	-2,22 (p=0,649)
IL-7 (pg/mL)	-0,68 (p=0,166)	0,30 (p=0,596)	-0,88 (p=0,104)	0,06 (p=0,582)	0,04 (p=0,316)	-0,04 (p=0,334)	-0,01 (p=0,975)	0,26 (p=0,471)
Autoantikehad								
Anti-TPO (IU/mL)	5,17 (p=0,451)	6,33 (p=0,435)	5,73 (p=0,458)	-0,36 (p=0,822)	0,05 (p=0,919)	0,38 (p=0,507)	1,22 (p=0,819)	-6,68 (p=0,197)

Tsütokiinide seost rasedustunnustega ning aastaajaga hinnati lineaarse regressioonanalüüsiga kohandatud tabelis olevatele tunnustele ja kihitatud tervete rasedate grupele – regressioonikordaja näitab tsütokiinide taseme erinevust eri aastaegadel võrreldes talvekuudega, 2 – regressioonikordaja näitab tsütokiini taseme muutust, kui raseduse kasvab 1 nädala võrra, 3 – regressioonikordaja näitab tsütokiini taseme seost uuritava vanuse vahel 1 aasta erinevuse kohta, 4 – regressioonikordaja näitab tsütokiini taseme seost raseduseelse kehamassiindeksiga, kui viimane suureneb 1 kg/m² võrra, 5 – regressioonikordaja hindab tsütokiini taseme erinevust rasedatel, kes tarvitasid raseduse ajal ravimeid võrreldes rasedatega, kes ravimeid ei tarvitanud, 6 – regressioonikordaja näitab tsütokiini taseme erinevust rasedal, kes ootab tütarlast võrreldes rasedaga, kes ootab poisslast, 7 – regressioonikordaja näitab tsütokiini taseme seost rasedusaegse kaaluliibega 1 kg kohta. Rõhutatud kirjas on märgitud statistiliselt olulised seosed, $p < 0,05$.

Tabel 9. Tsütokiinide ja anti-TPO autoantikehade taseme seos ainevahetusparameetritega ja rasedustunnustega kõikidel uuritavatel

Tunnus	Regressioonikordaja (p-väärtus)									
	Paastu-glükoosi tase veres ¹ (mmol/L)	60. minuti glükoosi tase veres ² (mmol/L)	Triglütse-riidide väärtus ³ (mmol/L)	Kolesterooli väärtus ⁴ (mmol/L)	HDL-kolesterooli väärtus ⁵ (mmol/L)	LDL-kolesterooli väärtus ⁶ (mmol/L)	Süstoolse vererõhu erinevus ⁷ <10 mm/Hg	Rasedus-aegne kaaluüve ⁸ (kg)	Makro-soomse lapse sünd ⁹	Raseduse suurus sünnitusel ¹⁰ (nädalat)
Adipokiinid										
Leptiin (ng/mL)	6,46 (p=0,009)	0,73 (p=0,762)	5,53 (p=0,039)	0,77 (p=0,528)	-6,00 (p=0,012)	2,12 (p=0,101)	-1,20 (p=0,632)	0,39 (p=0,028)	-6,50 (p=0,101)	-1,83 (p=0,216)
IL-1β (pg/mL)	-0,08 (p=0,490)	0,01 (p=0,613)	0,05 (p=0,668)	-0,06 (p=0,298)	0,07 (p=0,552)	-0,10 (p=0,091)	-0,13 (p=0,244)	0,004 (p=0,625)	-0,17 (p=0,340)	-0,08 (p=0,271)
IL-6 (pg/mL)	0,05 (p=0,729)	0,03 (p=0,370)	0,28 (p=0,044)	-0,01 (p=0,842)	-0,13 (p=0,300)	-0,01 (p=0,896)	-0,10 (p=0,431)	-0,003 (p=0,727)	0,04 (p=0,860)	-0,22 (p=0,005)
IFN-γ (pg/mL)	0,50 (p=0,743)	-0,44 (p=0,211)	-0,01 (p=0,996)	0,50 (p=0,502)	-0,29 (p=0,843)	0,76 (p=0,343)	0,63 (p=0,682)	-0,04 (p=0,737)	-1,01 (p=0,679)	-1,85 (p=0,046)
TNF-α (pg/mL)	-0,06 (p=0,822)	0,08 (p=0,161)	0,19 (p=0,495)	-0,24 (p=0,047)	-0,18 (p=0,468)	-0,26 (p=0,045)	-0,09 (p=0,734)	0,01 (p=0,547)	-0,14 (p=0,727)	-0,06 (p=0,716)
Resistiin (ng/mL)	28,53 (p=0,123)	-1,27 (p=0,562)	0,42 (p=0,983)	-1,34 (p=0,884)	-13,87 (p=0,444)	4,05 (p=0,680)	28,25 (p=0,133)	0,02 (p=0,989)	-6,30 (p=0,834)	17,74 (p=0,116)
Adipo-nektiin (µg/mL)	-7,10 (p=0,021)	1,44 (p=0,047)	-11,91 (p<0,001)	-2,52 (p=0,097)	9,37 (p=0,002)	-4,55 (p=0,005)	3,69 (p=0,238)	0,25 (p=0,272)	-3,88 (p=0,436)	1,89 (p=0,317)
PAI-1 (ng/mL)	3,26 (p=0,343)	0,10 (p=0,904)	-1,26 (p=0,737)	-0,02 (p=0,993)	-2,72 (p=0,417)	1,17 (p=0,517)	4,96 (p=0,154)	-0,05 (p=0,827)	-4,72 (p=0,395)	2,26 (p=0,282)
TGF-β1 (ng/mL)	-0,70 (p=0,637)	0,48 (p=0,167)	1,95 (p=0,224)	1,30 (p=0,074)	-1,86 (p=0,194)	1,95 (p=0,012)	0,33 (p=0,825)	0,10 (p=0,335)	-3,43 (p=0,149)	-2,23 (p=0,013)
TGF-β2 (ng/mL)	-0,06 (p=0,419)	0,03 (p=0,107)	0,09 (p=0,215)	0,05 (p=0,179)	-0,05 (p=0,452)	0,06 (p=0,080)	-0,003 (p=0,964)	0,004 (p=0,463)	-0,18 (p=0,108)	-0,11 (p=0,011)
TGF-β3 (pg/mL)	-13,20 (p=0,672)	3,90 (p=0,594)	-23,23 (p=0,463)	-6,15 (p=0,668)	6,79 (p=0,811)	-7,56 (p=0,623)	-4,24 (p=0,886)	-3,22 (p=0,126)	-30,98 (p=0,510)	-29,83 (p=0,094)
MCP-1 (pg/mL)	17,69 (p=0,093)	5,40 (p=0,028)	9,20 (p=0,408)	-2,25 (p=0,654)	-13,53 (p=0,172)	-1,64 (p=0,761)	-2,82 (p=0,785)	-0,37 (p=0,623)	5,68 (p=0,730)	-4,26 (p=0,495)

(Tabel 9. järg)

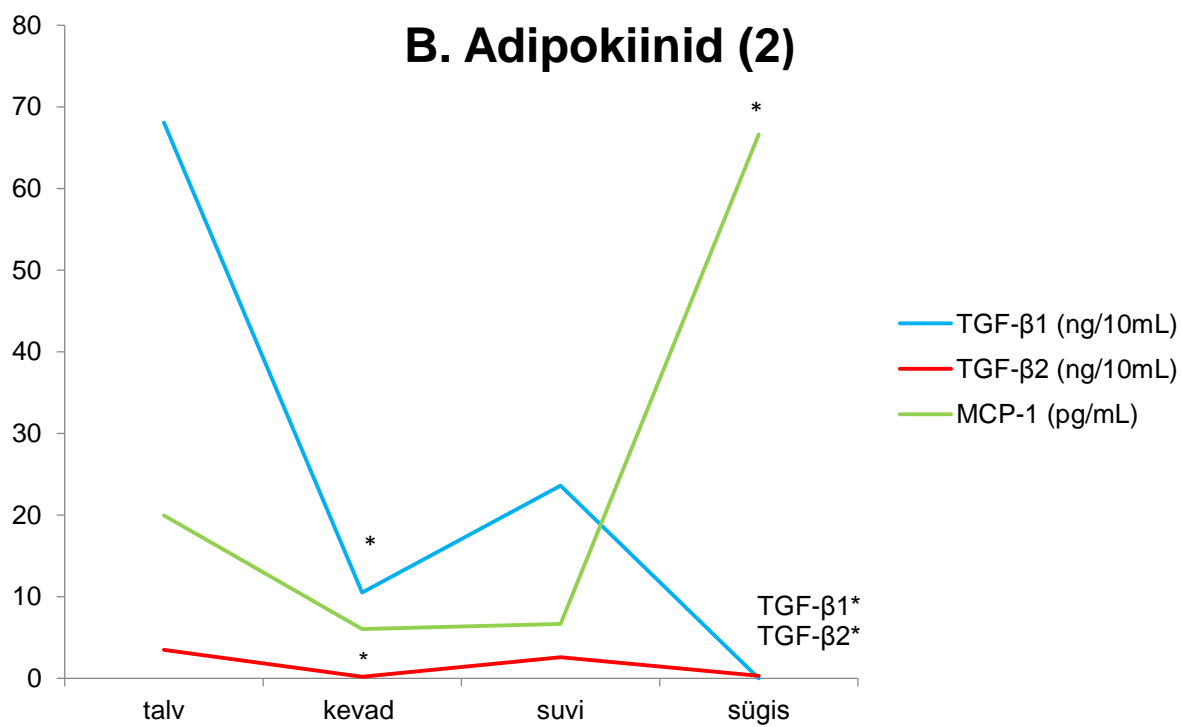
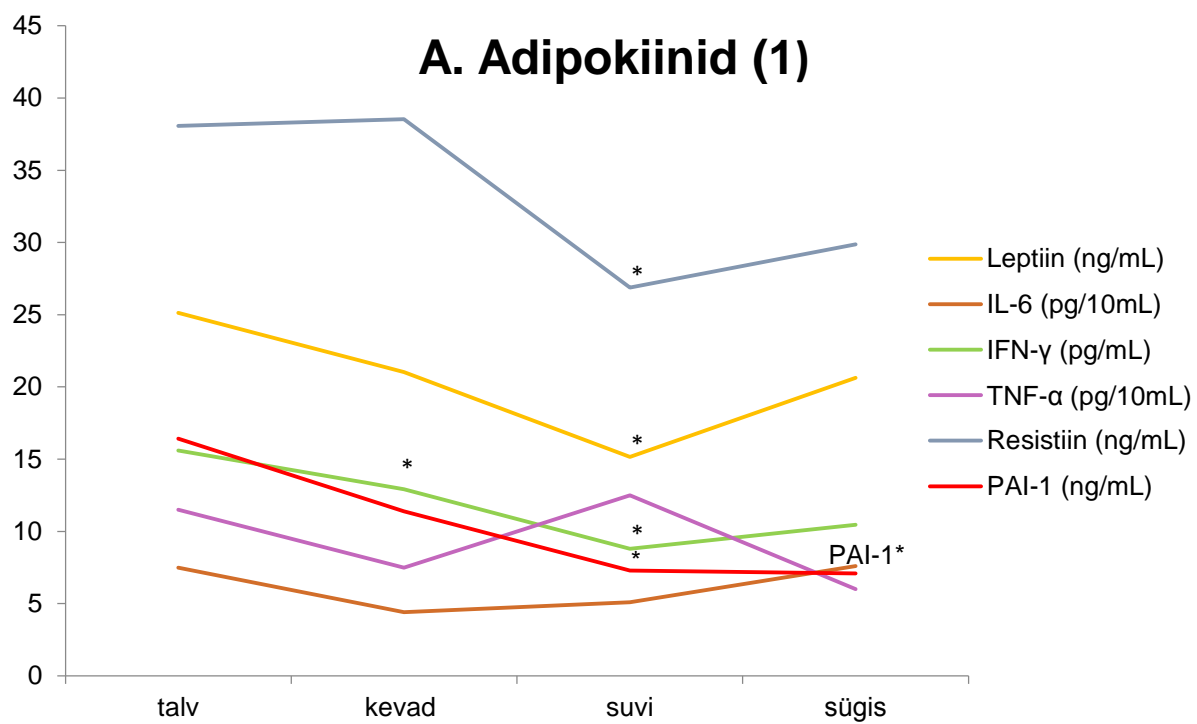
Tunnus	Regressioonikordaja (p-väärtus)									
	Paastu-glükoosi tase veres ¹ (mmol/L)	60. minuti glükoosi tase veres ² (mmol/L)	Triglütse-riidide väärtus ³ (mmol/L)	Kolesterooli väärtus ⁴ (mmol/L)	HDL-kolesterooli väärtus ⁵ (mmol/L)	LDL-kolesterooli väärtus ⁶ (mmol/L)	Süstoolse vererõhu erinevus ⁷ <10 mm/Hg	Rasedus-aegne kaaluüve ⁸ (kg)	Makro-soomse lapse sünd ⁹	Raseduse suurus sünnitusel ¹⁰ (nädalat)
Põletikureaktsioone reguleerivad tsütokiinid										
sIL-1RI (pg/mL)	-7,62 (p=0,300)	0,11 (p=0,949)	8,57 (p=0,283)	-1,31 (p=0,718)	-4,43 (p=0,535)	-0,92 (p=0,812)	7,56 (p=0,309)	0,26 (p=0,631)	-5,77 (p=0,626)	-3,28 (p=0,467)
IL-12 (pg/mL)	-0,09 (p=0,815)	0,05 (p=0,621)	0,28 (p=0,499)	-0,18 (p=0,347)	-0,39 (p=0,294)	-0,14 (p=0,496)	-0,42 (p=0,275)	-0,01 (p=0,851)	-0,26 (p=0,671)	-0,55 (p=0,020)
sTNFRII (ng/mL)	0,25 (p=0,432)	0,09 (p=0,226)	0,39 (p=0,242)	-0,15 (p=0,322)	-0,41 (p=0,161)	-0,11 (p=0,512)	0,01 (p=0,973)	<0,001 (p=0,993)	0,35 (p=0,473)	0,07 (p=0,727)
IL-17A (pg/mL)	-3,53 (p=0,270)	-0,59 (p=0,434)	6,15 (p=0,078)	1,30 (p=0,410)	-1,65 (p=0,597)	1,54 (p=0,365)	0,17 (p=0,958)	-0,05 (p=0,849)	12,51 (p=0,015)	-0,86 (p=0,665)
IL-17F (pg/mL)	0,01 (p=0,442)	<0,01 (p=0,075)	0,01 (p=0,156)	<0,001 (p=0,027)	-0,01 (p=0,149)	0,01 (p=0,005)	-0,01 (p=0,118)	-0,001 (p=0,108)	-0,01 (p=0,545)	<0,001 (p=0,876)
IL-21 (pg/mL)	0,11 (p=0,794)	-0,03 (p=0,743)	-0,32 (p=0,479)	-0,26 (p=0,202)	0,33 (p=0,416)	-0,35 (p=0,102)	-0,09 (p=0,824)	-0,02 (p=0,532)	-0,37 (p=0,581)	-0,07 (p=0,792)
IL-23 (pg/mL)	21,36 (p=0,294)	1,49 (p=0,756)	46,95 (p=0,025)	-8,40 (p=0,379)	-21,09 (p=0,263)	-7,57 (p=0,459)	-23,09 (p=0,239)	-0,03 (p=0,985)	-42,98 (p=0,169)	-16,61 (p=0,163)
IL-10 (pg/mL)	-0,13 (p=0,950)	0,39 (p=0,414)	-2,51 (p=0,255)	-0,74 (p=0,460)	-0,35 (p=0,859)	-0,79 (p=0,460)	4,13 (p=0,044)	0,10 (p=0,489)	0,277 (p=0,932)	0,24 (p=0,850)
IL-27 (ng/mL)	-0,90 (p=0,418)	-0,41 (p=0,115)	-1,46 (p=0,222)	0,54 (p=0,316)	0,65 (p=0,544)	0,51 (p=0,377)	0,53 (p=0,636)	-0,05 (p=0,503)	-0,63 (p=0,725)	1,07 (p=0,112)
Lümfotsüütide regulatsioonis osalevad tsütokiinid										
IL-2 (pg/mL)	0,01 (p=0,987)	0,01 (p=0,904)	-0,55 (p=0,303)	-0,34 (p=0,166)	0,20 (p=0,673)	-0,41 (p=0,115)	0,46 (p=0,349)	0,03 (p=0,463)	-0,41 (p=0,606)	-0,21 (p=0,490)
sIL-2Rα (pg/mL)	97,89 (p=0,044)	2,47 (p=0,829)	117,63 (p=0,025)	-0,23 (p=0,992)	-144,77 (p=0,002)	32,80 (p=0,198)	-84,75 (p=0,082)	0,03 (p=0,463)	75,86 (p=0,331)	-36,45 (p=0,220)

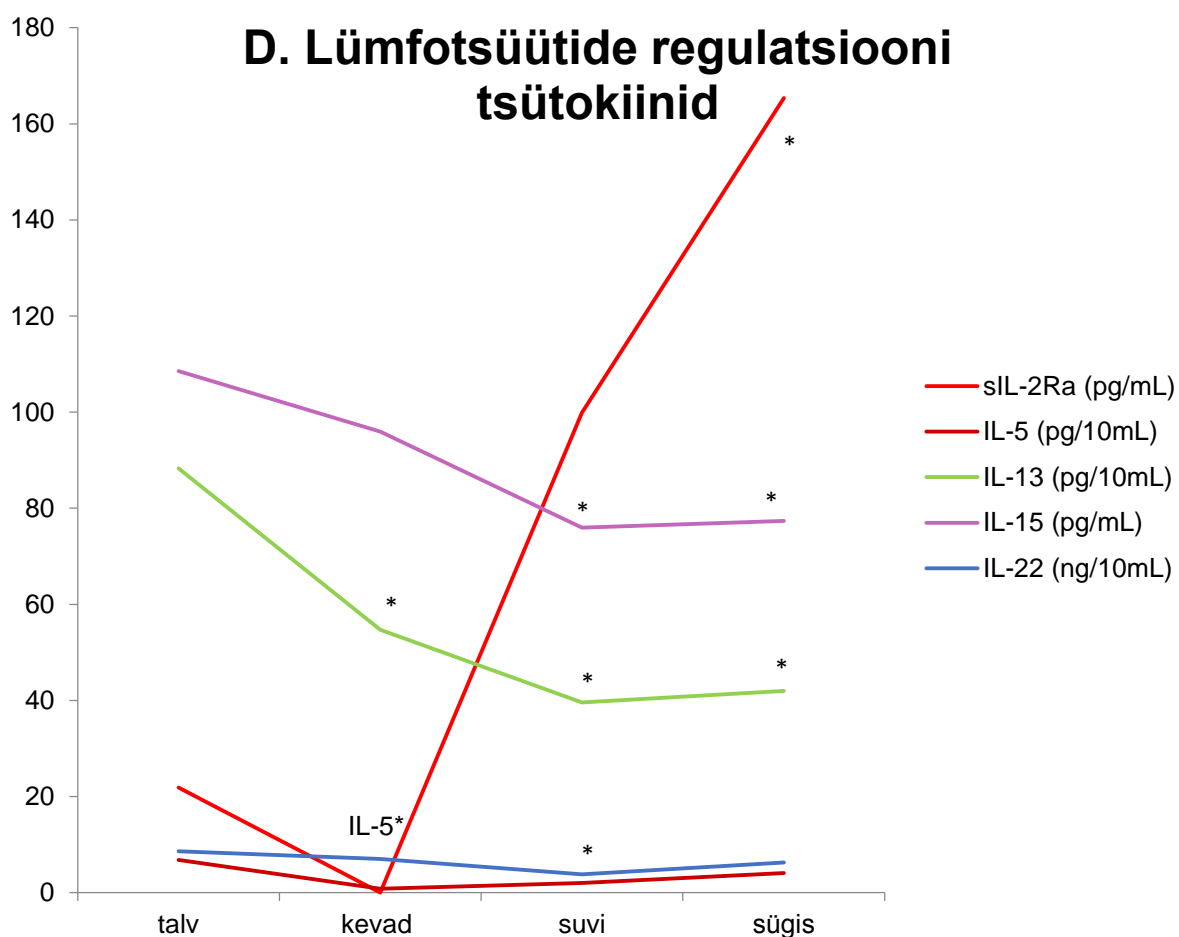
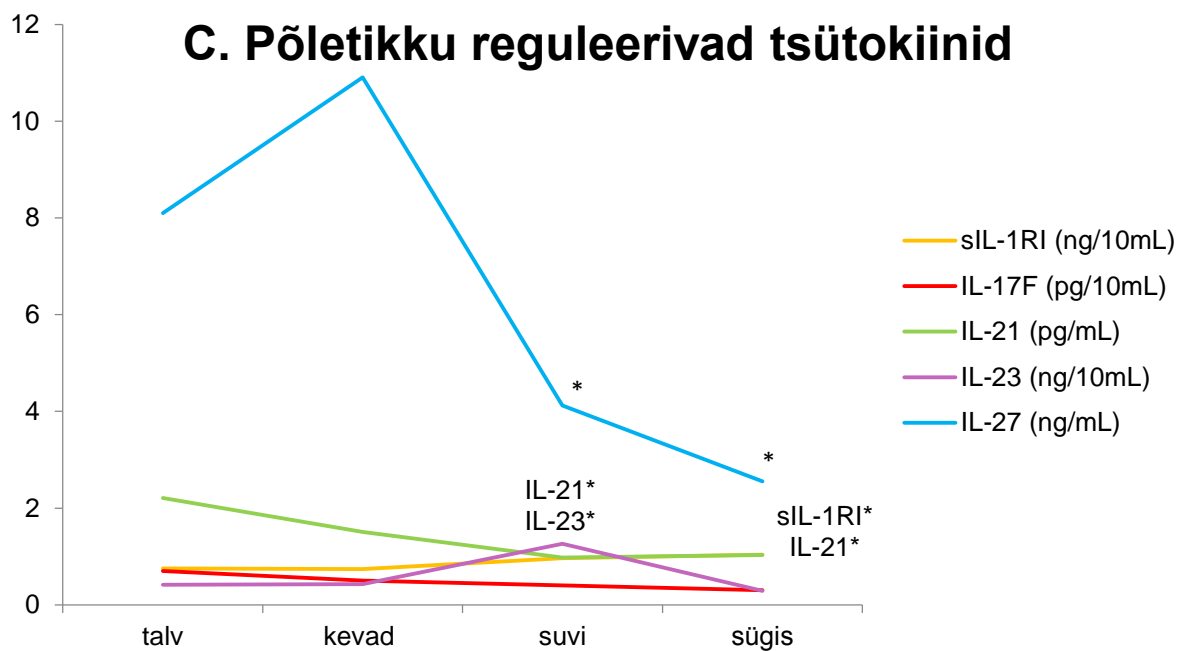
(Tabel 9. järg)

Tunnus	Regressioonikordaja (p-väärtus)									
	Paastu-glükoosi tase veres ¹ (mmol/L)	60. minuti glükoosi tase veres ² (mmol/L)	Triglütse-riidide väärtus ³ (mmol/L)	Kolesterooli väärtus ⁴ (mmol/L)	HDL-kolesterooli väärtus ⁵ (mmol/L)	LDL-kolesterooli väärtus ⁶ (mmol/L)	Süstoolse vererõhu erinevus ⁷ <10 mm/Hg	Rasedus-aegne kaaluüve ⁸ (kg)	Makro-soomse lapse sünd ⁹	Raseduse suurus sünnitusel ¹⁰ (nädalat)
IL-4 (pg/mL)	-0,58 (p=0,451)	0,06 (p=0,750)	1,21 (p=0,150)	-0,24 (p=0,537)	-0,63 (p=0,404)	-0,22 (p=0,586)	-0,78 (p=0,315)	0,02 (p=0,707)	-1,45 (p=0,243)	-0,52 (p=0,269)
IL-5 (pg/mL)	-0,07 (p=0,695)	-0,02 (p=0,662)	-0,17 (p=0,397)	0,01 (p=0,875)	0,18 (p=0,316)	-0,04 (p=0,696)	0,18 (p=0,327)	-0,01 (p=0,735)	-0,09 (p=0,748)	-0,06 (p=0,588)
IL-13 (pg/mL)	-0,43 (p=0,655)	-0,13 (p=0,573)	-0,04 (p=0,966)	0,24 (p=0,599)	-0,25 (p=0,787)	0,27 (p=0,580)	0,04 (p=0,964)	-0,09 (p=0,164)	0,92 (p=0,540)	-0,05 (p=0,425)
IL-15 (pg/mL)	2,05 (p=0,768)	0,08 (p=0,959)	2,16 (p=0,774)	5,78 (p=0,088)	-8,19 (p=0,222)	8,16 (p=0,024)	-4,04 (p=0,564)	-0,48 (p=0,338)	-2,03 (p=0,855)	2,64 (p=0,532)
IL-22 (ng/mL)	0,11 (p=0,263)	0,03 (p=0,162)	0,14 (p=0,194)	0,12 (p=0,010)	-0,12 (p=0,182)	0,15 (p=0,002)	-0,14 (p=0,149)	-0,01 (p=0,330)	-0,13 (p=0,421)	0,01 (p=0,981)
Kemokiinid										
IP-10 (pg/mL)	67,72 (p=0,165)	0,12 (p=0,991)	-44,82 (p=0,373)	-15,38 (p=0,501)	-25,68 (p=0,569)	-9,72 (p=0,690)	-43,35 (p=0,355)	3,22 (p=0,337)	209,70 (p=0,005)	-22,89 (p=0,420)
MIP-1β (pg/mL)	1,88 (p=0,578)	-0,32 (p=0,684)	6,44 (p=0,062)	0,16 (p=0,919)	-3,03 (p=0,328)	0,525 (p=0,755)	-2,85 (p=0,377)	0,06 (p=0,780)	-2,31 (p=0,654)	-4,85 (p=0,012)
IL-8 (pg/mL)	-1,32 (p=0,095)	-0,22 (p=0,245)	0,88 (p=0,310)	0,49 (p=0,207)	0,25 (p=0,743)	0,41 (p=0,325)	1,00 (p=0,211)	-0,03 (p=0,638)	2,29 (p=0,073)	-0,35 (p=0,476)
Hematopoeesi stimuleerivad tsütokiinid										
GM-CSF (pg/mL)	-0,89 (p=0,882)	1,30 (p=0,354)	0,14 (p=0,980)	-3,56 (p=0,178)	0,18 (p=0,973)	-4,28 (p=0,131)	-2,92 (p=0,591)	0,26 (p=0,510)	-0,06 (p=0,995)	0,83 (p=0,803)
IL-7 (pg/mL)	-0,44 (p=0,189)	0,02 (p=0,819)	0,11 (p=0,757)	-0,21 (p=0,206)	-0,24 (p=0,466)	-0,21 (p=0,246)	-0,06 (p=0,853)	0,02 (p=0,453)	-0,17 (p=0,757)	-0,18 (p=0,381)
Autoantikehad										
Anti-TPO (IU/mL)	1,79 (p=0,666)	-1,10 (p=0,244)	-0,02 (p=0,996)	-1,78 (p=0,375)	-5,18 (p=0,196)	-0,97 (p=0,657)	2,21 (p=0,595)	0,13 (p=0,658)	-6,60 (p=0,324)	-1,83 (p=0,216)

Tsütokiinide seost on hinnatud lineaarse regressioonanalüüsiga kohandatuna aastaajale ja raseduse suursele. 1 – regressioonikordaja näitab seost tsütokiini taseme ja tühjakõhu veresuhkru väärtuse vahel veres, kui viimane suureneb 1 mmol/L; 2 – regressioonikordaja näitab seost tsütokiini taseme ja pärast 60. minutit

glükoositaluvuse koormusproovi veresuhkru väärtuse vahel veres, kui viimane suureneb 1 mmol/L; 3 – regressioonikordaja näitab seost tsütokiini taseme ja triglütseriidide väärtuse vahel veres, kui viimane suureneb 1 mmol/L; 4 – regressioonikordaja näitab seost tsütokiini taseme ja kolesterooli väärtuse vahel veres, kui viimane suureneb 1 mmol/L; 5 – regressioonikordaja näitab seost tsütokiini taseme ja HDL-kolesterooli väärtuse vahel veres, kui viimane suureneb 1 mmol/L; 6 – regressioonikordaja näitab seost tsütokiini taseme ja LDL-kolesterooli väärtuse vahel veres, kui viimane suureneb 1 mmol/L; 7 – regressioonikordaja näitab seost tsütokiini taseme ja süstoolse vererõhu kätevahelise erinevuse rohkem kui 10 mm/Hg vahel; 8 – regressioonikordaja hindab seost tsütokiini taseme ja rasedusaegse kehakaalu tõustes 1 kg; 9 – regressioonikordaja näitab tsütokiinide taseme erinevust emal, kes sünnitas makrosoomse lapse võrrelduna ala või normkaalus vastsündinud lapse emaga; 10 – regressioonikordaja näitab tsütokiinide taseme erinevust sekkunud sünnituse korral võrrelduna loomulikult teel sünnitanud naisega, kui arvesse on võetud raseduse suurust sünnituse hetkel. **Rõhutatud kirjas** on märgitud statistiliselt oluline väärtus, $p < 0,05$.





Joonis 6: Plasma tsütokiinide profiil sõltuvalt aastaajast. Tsütokiinid on klassifitseeritud vastavalt adipokiinid (A ja B), põletikku reguleerivad tsütokiinid (C) ja lümfotsüütide regulatsiooni tsütokiinid (D), mille tase on arvutatud tabelis 8 esitatud kohandatud lineaarse regressiooni tulemustest. * $p < 0,05$ võrrelduna talvega.

Leptiini tase oli madalam suvel ja kõrgem suurema KMIga uuritavatel (**Tabel 8** ja **Joonis 6**), seostudes positiivselt veresuhkru ja triglütseriidide väärtustega paastuseerumis ning negatiivselt HDL-kolesterooli väärtustega (**Tabel 9**). Sarnaselt leptiini tasemele eristusid uuritavate gruppide vahel MCP-1 keskvväärtused (**Tabel 7**). Lisaks leidsime, et MCP-1 tase on kõrgeim sügiskuuudel ja suurema KMIga naistel (**Tabel 8**) ning oli seotud kõrgemate veresuhkru väärtustega GTT järgselt (**Tabel 9**). Adiponektiini kõrgemad väärtused olid iseloomulikud AI-GDM grupi uuritavatele (**Tabel 7**), väiksemale KMIle enne rasedust (**Tabel 8**), madalamale paastuglukoosi tasemele ja kõrgemale GTT veresuhkru väärtusele, madalamale triglütseriidide ja LDL-kolestereooli väärtusele ning kõrgemale HDL-kolesterooli väärtusele (**Tabel 9**). AI-GDM iseloomustas IFN- γ kõrgem tase võrreldes tervete rasedatega ja neid omakorda võrreldes IR-GDMiga. Lisaks oli IFN- γ tase talvel oluliselt kõrgem kui suve- ja sügiskuuudel (**Tabel 8**) ning seostus negatiivselt sünnituse ajaga ajalise sünnituse piires (**Tabel 9**).

Tabelist 8 selgub, et enamik uuritud adipokiine: leptiin, IFN- γ , resistiin, PAI-1, TGF- β 1 ja 2 on suve ja sügiskuuudel veres madalama väärtusega kui talvel, va. MCP-1, mille tase on sügisel oluliselt kõrgem kui talvel. Neist leptiin ja MCP-1 olid seotud positiivselt ning adiponektiin negatiivselt raseduseelse KMIga. PAI-1 tase oli madalam neil naistel, kes ootasid tüdruku võrreldes poisslapse ootel olevate naistega. **Tabelist 9** selgub, et lisaks leptiinile ja adiponektiinile on IL-6 tase seotud kõrgemate triglütseriidide tasemega veres ning varasema sünnitusega. Varasema sünnitusega seostusid veel IFN- γ , TGF- β 1 ja 2. TNF- α tase oli seotud väiksemate üld- ja LDL-kolesterooli väärtustega vereseerumis.

4.5.2 Põletikureaktsioone reguleerivad tsütokiinid

Põletikureaktsioone reguleerivatest tsütokiinidest erines uuritavate gruppide vahel IL-21 ja IL-27, mille väärtused oli AI-GDM grupi uuritavate vereplasmas oluliselt kõrgemad kui tervetel rasedatel. IR-GDM grupi IL-21 tase tundus olevat võrdlusgrupi väärtusest madalam, kuid see erinevus ei olnud statistiliselt oluline (**Joonis 5**). Mõlemad tsütokiinid olid suve- ja sügiskuuudel oluliselt madalama väärtusega võrreldes talvekuudel analüüsitud vereproovidega (**Tabel 8**).

Tabelist 8 selgub veel, et IL-23 on just suvel oluliselt kõrgem kui talvel ja sIL-1RI tase tõuseb suveks-sügiseks kõrgemale kui talvel. Neist IL-23 oli positiivselt seotud triglütseriidide väärtustega veres (**Tabel 9**). Tsütokiinide IL-21 ja IL-17F tase aga hoopis langeb suve- ja sügiskuuudeks, võrreldes talveperioodiga (**Tabel 8**), neist IL-17F oli seotud kõrgemate üld- ja LDL-kolesterooli väärtustega (**Tabel 9**). IL-10 tase oli seotud raseduseaegse käte vahelise

vererõhu erinevusega. Lisaks suurenevad IL-12 ja sTNFR^{II} tase raseduse kasvades (**Tabel 8**) ja IL-12 oli seotud varasema sünnituse toimumisega (**Tabel 9**).

4.5.3 Muud tsütokiinid

Tabelist 7 selgub, et lümfotsüütide regulatsioonis osalevate tsütokiinide alla klassifitseeritava IL-22 tase eristub uuritavate gruppide vahel sarnaselt adiponektiini ja IL-21ga (**Joonis 5**), olles AI-GDM uuritavatel oluliselt kõrgem võrdlusgrupi naistest ning IL-22 tase IR-GDM grupis on võrreldav võrdlusgrupi tasemega. IL-22 tase, lisaks IL-4, IL-5, IL-13 ja IL-15 tasemele, oli suvekuudel oluliselt madalam võrrelduna talve perioodiga (**Tabel 8, Joonis 6**). Nendest tsütokiinidest IL-22 ja IL-15, mille plasma väärtused olid talvel kõrgemad, andsid olulise seose ka vastavalt üld- ja/või LDL-kolesterooli väärtustega (**Tabel 9**). Eristus sIL-2Ra, mille tase suurenes soojal aastaajal muutudes sügiskuuudeks statistiliselt oluliselt kõrgemaks võrreldes talveperioodiga. See tsütokiin oli positiivselt seotud raseduseaegse kaaluuibega (**Tabel 8**) ja veresuhkru ning triglütseriidide tasemega paastuseerumis ning negatiivselt seotud HDL-kolesterooli tasemega (**Tabel 9**).

Kemokiinide ja hematopoeesi stimuleerivate tsütokiinide ning anti-TPO autoantikehade tasemete poolest uuritavad grupid ei erinenud omavahel (**Tabel 7**). Samamoodi ei selgunud seost siin uuritud tsütokiinide ja raseduseaegsete parameetrite vahel (**Tabel 8**). Küll aga seostusid kemokiinid IP-10 oluliselt makrosoomse lapse sünniga ja MIP-1 β varasema sünnitusega (**Tabel 9**).

5 ARUTELU

Käesolev magistritöö kinnitab viimase aja teaduskirjanduses levima hakanud arusaama, et GDM ei ole defineeritav ühe haigusena, vaid selle sees eristuvad vähemalt kaks erinevat alagruppi. Täpsemalt keskendus antud uurimustöö kliinilistele ja laboratoorsetele parameetritele, mis võiksid olla aluseks GDM alagruppide eristamiseks igapäevases kliinilises praktikas. Selliselt moodustunud autoimmuunse ja insuliinresistentsusele põhinevad GDM alagrupid erinesid teineteisest patsientide kliiniliste näitajate ning immuunsüsteemi reguleerivate tsütokiinide profiili poolest. Märkimisväärne oli veel asjaolu, et tervete rasedate naiste grupp positsioneerus vaadeldud markerite poolest kahe GDM alagrupi vahele.

Uuringu tulemused näitasid, et kõikide uuritavate hulgas esines 6,0% vähemalt üks uuritud diabeediga seotud autoantikeha, neist GDM diagnoosiga rasedatel 1,9% ning võrdlusgrupi uuritavatel 7,1%. Kliinilise GDMiga rasedatest olid 1,9% GADA-positiivsed, mis sarnaneb Taanis läbiviidud uuringu tulemustega (Petersen *et al.*, 1996). Kirjanduse andmeil moodustab GADA autoantikehade positiivne leid GDMi juhtudest 0-9,5% (Füchtenbusch *et al.*, 1997), kuid see sõltub uuritavast populatsioonist, mis määrab autoimmuunse GDMi osakaalu kogu GDMi haigete hulgas (King, 1998). Pärast GADAsid järgnes anti-TPO, mis oli igati ootuspärane leid, sest rasedusaegset kilpnäärme vastaste autoantikehade leidu esineb väga sageli sõltumata autoimmuunse kilpnäärme haiguse esinemisest (Karakosta *et al.*, 2012).

ICA, IA-2A ja anti-ZnT8 vastaste autoantikehade esinemissagedus jäi uuritavate vereseerumis vahemikku 0-1,6%. GDMiga rasedate hulgas ICA esinemissageduseks hinnatakse 2-36%, IA-2A puhul 0-6,2% ning anti-ZnT8 korral kuni 2,1% (Dereke *et al.*, 2012; Dozio *et al.*, 1997; Füchtenbusch *et al.*, 1997), kuid jällegi sõltuvad need numbrid GDM valimi moodustamisest. Meie uuritavaid iseloomustas valdavalt madal positiivsus vaadeldud autoantikehade suhtes. Põhiliselt mõjutab viimaste sageduse erinevust uurimistööde lõikes kaasatud inimeste etniline päritolu ja populatsioonide erinevused autoimmuunsete haiguste esinemissageduse poolest (Leiva *et al.*, 2007).

Meie uuritavatest esines 15 naisel vähemalt üks diabeediga seotud autoantikeha. Neist 14 kuulusid kliinilise GDM diagnoosi kohaselt mitte-GDM rasedate hulka. Küll aga tähendab diabeediga assotseeruva autoantikeha esinemine neil naistel suurenenud autoimmuunse diabeedi riski ning nad võiksid vajada vastavat arstlikku jälgimist rasedusaegselt ja sünnitusjärgselt.

Lisaks eelnevale viitab pankrease autoantikehade esinemine vereseerumis ka pankreatiidi tekkele hilisemas elus. Näidatud on, et adipoossusest tingitud põletik võib soodustada kõhunäärme antigeenide vastast autoimmuunsete reaktsioonide teket (Haller-Kikkatalo *et al.*, 2015). Nilsson *et al.* (2007) näitas, et 21% glükoosi ainevahetuse häiretega naistel olid diabeediga seostatud autoantikehad vereseerumis. Viimaste olemasolu korral arenes 41% rasedatest T1D poole aasta jooksul pärast sünnitamist. Meie tulemuste põhjal selgus, et väljaspool nn. GDM rasedaid esines 7,1% naisi, kellel esines autoimmuunse GDMi risk.

Mõlema GDM alagrupi paastuglükoosi keskmised väärtused olid kõrgemad võrdlusgrupi omast. Küll aga oli IR-GDM uuritavate keskmine paastuglükoosi tase kõrgem normist ja kõrgem ka AI-GDM grupi samast väärtusest. Paastuglükoosi normist kõrgem tase näitab, et baasinsuliini sekretsioon ei ole piisav tagamaks maksarakkude insuliintundlikkust glükoosi väljutamise protsessis (Unwin *et al.*, 2002). Eelnevast lähtudes võib öelda, et IR-GDM patsientidel esines ülemäärane glükoosi tootmine maksa poolt ning viimasest tingituna glükoosi tolerantsuse häire.

Seega, uuritavate jaotamine alagruppidesse võimaldas näha, et AI-GDM ja võrdlusgrupi GTT testi tulemusena saadud veresuhkruväärtused sarnanesid üksteisele enam, kui IR-GDM uuritavate omad, mis olid eelnevatest oluliselt erinevad.

Erinevalt paastuglükoosi taseme hindamisest võimaldab GTT testi tulemus hinnata insuliinresistentsuse olemasolu. Nimelt GTT testi põhjal saadud veresuhkruväärtused näitavad suhet süsivesikute omastamise lihas- ja maksarakkude poolt ning glükoosi peatunud väljutamise vahel maksarakkudest. Toiduga stimulatsiooni järgselt tõuseb kiiresti insuliini sekretsioon ning häirete puhul on tegu perifeerse insuliinresistentsusega (Unwin *et al.*, 2002). Meie tulemused näitasid, et AI-GDM grupi insuliini väljutamine oli madalaim, millele järgnesid võrdlusgrupi ja alles seejärel IR-GDMi uuritavad. Sama tendents jätkus ka KMI ja CRV väärtuse puhul. CRV erinevus kolme uuritavate grupi vahel püsis ka pärast sünnitust. Wolf oma uurimisrühmaga (2003) näitas, et raseduse I trimestri kõrgemad CRV väärtused soodustasid GDMi kujunemist ning GDM diagnoosiga patsientide raseduse ajal üha suurenev adipoossus ja insuliinresistentsus põhjustas veres veelgi CRV taseme tõusu. Põletikumarkeri CRV kõrgemad väärtused on seostatud muutustega vererõhu näitajates, endoteeli düsfunktsiooni, suurema HDL-kolesterooli ja triglütseriidide tasemega veres ning IR tekkega (Yudkin *et al.*, 1999).

IR-GDM alagruppi kuuluvad patsiendid olid enne rasedust ülekaalulised. Toitainete üleküllus kudedes põhjustab madalatasemelist kroonilist põletikku ja see omakorda tõstab riski T2D

arenguks (Maedler *et al.*, 2002). Häired paastuglukoosi normi juures hoidmises ning insuliini sekretsioonis viitavad tulevasele võimalikule diabeedile ja südamehaigustele (Unwin *et al.*, 2002; Wareham *et al.*, 1999).

Seega näitasid meie tulemused, et võrdlusgrupi glükoosi ainevahetust iseloomustavad keskmised näitajad paigutasid AI-GDM ja IR-GDM gruppide vastavate näitajate vahele AI-GDM ja IR-GDM rasedad moodustavad hilisemas elus aga vastavalt T1D või T2D riskirühma. Lähtudes eelnevalt kirjutatust, võib väita, et hetkel kasutusel olevad kliinilise GDMi diagnoosikriteeriumid baseeruvad vaid IR-suuna tuvastamisel, mistõttu AI-GDM rasedad jäävad tervetest ja T2D riskiga rasedatest eristamata.

Analüüsides tsütokiinide väärtusi GDM alagruppides ja seda eelduselt, et AI-GDM ja IR-GDM on võimalike sünnitusjärgselt tekkivate T1D ja T2D varaseks ilminguks (Haller-Kikkatalo ja Uibo, 2014), võimaldab see uuring hinnata tekkemehhanisme nimetatud haiguste väga varases staadiumis.

On teada, et leptiini tase tõuseb rasedusest tingitud ainevahetuse kohastumuse tõttu ja seostub muude energiat vajavate või salvestavate olukordadega (Haller-Kikkatalo ja Uibo, 2014; Henson *et al.*, 1998). Meie leidsime, et kõrgem leptiini tase vereseerumis oli seotud talvekuudega, raseduseelse kõrgema KMIga ning suurema kaaluiibega raseduse ajal. Leptiin oli ka üks tsütokiinidest, mille taseme poolest eristusid AI-GDM ja IR-GDM üksteisest. Leptiini kõrgemaid väärtusi peetakse parimaks rasedusaegse IR tekke ennustajaks, seega kõrgem leptiini tase IR-GDM grupis kinnitab eelnevalt spekulatsioonid sarnasust tulevase võimaliku T2D patoloogia tekkele (Lepercq *et al.*, 1998).

Sarnaselt leptiinile eristusid uuritavate gruppide vahel MCP-1 keskvväärtused. MCP-1 taseme tõusu seostatakse krooniliselt suurenenud põletikulise aktiivsusega, mille näiteks on nii rasedus, rasvumine kui IR (Mehta *et al.*, 2010; Takahashi *et al.*, 2003). Nimelt rasvkoes ülesreguleeritud MCP-1 peatab insuliin-reguleeritud glükoosi sissevõttu ning modifitseerib rasvade ladestumist adipotsüütidesse (Gerhardt *et al.*, 2001; Sartipy ja Loskutoff, 2003). Sel põhjusel on diabeediga patsientide veres kõrgemad MCP-1 väärtused võrreldes tervetega (Nomura *et al.*, 2000). Vastavalt sellele leidsime, et MCP-1 tase oli kõrgeim sügiskuudel ja suurema KMIga naistel ning oli seotud kõrgemate veresuhkru väärtustega GTT järgselt, viidates veelgi MCP-1 seosele IRiga.

Vastupidiselt leptiini ning MCP-1 väärtustele oli adiponektiini ja IFN- γ tase IR-GDM uuritavatel kõige madalam, järgnesid terved rasedad ning kõrgeimad väärtused olid AI-GDM grupis. Adiponektiini tase on negatiivses seoses rasvkoe hulgaga (Matsubara *et al.*, 2002), mis

seletab vastava adipokiini seost väiksema KMIga enne rasedust ning samasuunalist muutumist suhkru- ja lipiidide ainevahetusparameetrites. Adiponektiini kõrgemate väärtuste seos madalama paastuglukoosi ja kõrgema GTT veresuhkru väärtusega viitab IRile ning püsivalt tõusnud insuliini sekretsioonile. Need nähtused esinevad nii diabeedi kui raseduse korral (Haller-Kikkatalo ja Uibo, 2014).

Adipokiinidest oli IFN- γ AI-GDM uuritavatel oluliselt kõrgem kui IR-GDM uuritavatel. Hayashi *et al.* (1998) näitas, et IFN- γ on seotud kõhunäärme saarekestes põletikulise keskkonna kujunemisega, mis põhjustab viimaste hävinemist. Seetõttu IFN- γ osaleb beetarakkude massi vähenemises ning on ülesreguleeritud eelkõige T1D korral (Honkanen *et al.*, 2010). Lisaks oli IFN- γ nii meie kui teiste (Katila *et al.*, 1993) töös seotud aastaajaga, olles kevade ja suvekuudel talvekuudest oluliselt madalam. IFN- γ kõrgemaid väärtusi veres seostatakse psühholoogilise stressi esinemisega (Maes *et al.*, 1998). Võimalik, et suvekuid iseloomustav IFN- γ madalamad tasemed meie uuritavate seas on tingitud võimalusest, et suvekuudel võib ehk esineda vähem haigustekitajatest ja pimedast ajast tingituna stressoreid võrreldes talvekuudega (Gradel *et al.*, 2016; Maes *et al.*, 1998).

Kirjanduse andmeil inhibeerib IFN- γ viiruste replikatsiooni (Karupiah *et al.*, 1993) ja Th2 vahendatud ülitundlikkusreaktsiooni (Gajewski ja Fitch, 1988), mistõttu omab IFN- γ rasedusele soodsat toimet (Ashkar ja Croy, 1999). Meie uuringus esines IR-GDM grupis, kus oli madal IFN- γ , palju enam sekkunud sünnitusi. Samas kui AI-GDM grupis, kus IFN- γ tase oli kõrge, oli valdavaks loomulik sünnitusviis. Lisaks oli meie uuringus IFN- γ negatiivses seoses sünnituse ajaga ehk madalam IFN- γ tase seostus hilisema sünnitusega ning seda ajalise sünnituse piires (37 nädalat kuni 41 nädalat ja 6 päeva).

Lisaks näitasime, et tervetel rasedatel uuritud adipokiinidest enamik omasid suve- ja sügiskuudel veres madalamaid väärtusi võrreldes talvekuudega. Aastaaeg ja selle mõjutegurid nagu päikesevalguse hulk, temperatuur, allergeenide ja haigustekitajate arvukus ümbritsevas keskkonnas, mõjutavad immuunsüsteemi rakkude aktiivsust ning tsütokiinide tootmise taset. Kuid hooajalisuse mõju tsütokiinidele on väga keeruline hinnata, sest segavad faktorid, mille näidetena võib välja tuua plasma kortisooli taseme, füüsilise ja vaimse stressi ning infektsioonid, võivad varjutada tulemusi (Haus ja Smolensky, 1999).

Samuti leidsime, et adipokiinidest PAI-1 tase oli madalam neil tervetel naistel, kes ootasid tüdart võrreldes poisslapse ootel olevate naistega. PAI-1 toodetakse valge kui ka pruuni rasvkoe poolt ning rasvumise, glükoosi taluvuse languse või lausa IR esinemine võimendavad PAI-1 sünteesi (Alessi *et al.*, 1997).

Sünnitus on mõõduka põletikuga kulgev protsess, mida iseloomustab IL-6 ning TNF isovormide ja nende retseptorite ülekpressioon (Arntzen *et al.*, 1997). Veel enam, IL-6 kõrgemaid väärtusi peetakse lootevees enneaegse sünnituse riskimarkeriks (Coultrip *et al.*, 1994). Meie leidsime, et lisaks IL-6 olid ka TGF- β 1 ja 2 seotud varasema sünnitusega. IL-6 vastutab CRV tootmise eest ning TGF- β isovormid võimendavad seda (Taylor *et al.*, 1990). CRV kõrged väärtused kutsuvad esile enneaegset sünnitust põhjustatuna loote mitteküpsenud membraanide hapraks muutumise tõttu (Romero *et al.*, 1990). Olgu siinkohal öeldud, et meie uuringus oli tegu ajaliste sünnitustega kõigil juhtudel.

Vastavalt oodatule leidsime, et tsütokiinidest IL-21 ja IL-27 väärtused olid AI-GDM grupi vereplasmas oluliselt kõrgemad kui tervetel rasedatel. Nimetatud tsütokiinide ülesregulatsiooni seostatakse valdavalt T1D patogeneesiga (Ferreira *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2008). Nimelt IL-21 suurenenud produktsioon soodustab kõhunäärme saarekestes põletiku teket ning saarekete spetsiifiliste autoantikehade tootmist (Sutherland *et al.*, 2009). IL-21 signaali allasurumine omab paljude autoimmuunhaiguste puhul haigust edasilükkavat efekti (Sutherland *et al.*, 2009). Wang *et al.* (2008) näitas samuti IL-27 supresseerimise kaitsvat mõju pankrease beetarakkudele. Meie tulemus annab kinnitust, et AI-GDM eristub selgelt IR-GDM uuritavatest ning et AI-GDMi ja T1Dd iseloomustab sarnane põletikuline keskkond.

Põletikuregulatsioonis osalevatest tsütokiinidest leiti statistiliselt oluline seos IL-23 ja suve ning sIL-1RI ja suve-sügise vahel. Kirjanduse kohaselt kevad- ja suvekuude kõrgemad õhutemperatuurid ning üha suurenev allergeenide arvukus põhjustab põletikutsütokiinide taseme tõusu veres, mis väheneb talve saabudes (Myrianthefs *et al.*, 2003). Kuna IL-23 aktiveerib Th17 rakke ja nende tsütokiinide produktsiooni, siis IL-23 tõusu veres seostatakse astma ja hingamisteede põletikega (Peng *et al.*, 2009). IL-1 isovormid seonduvad IL-1 retseptorile, mille kõrgemaid väärtusi seostatakse samuti põletikega, bakteriaalsete, seente ja viirusinfektsioonide ning AI-haigustega (Mills *et al.*, 2013).

Antud töös leidsime, et IL-17F tase oli madalam suve- ja sügiskuudel võrreldes talvekuudega ning oli seotud kõrgemate üld- ja LDL-kolesterooli väärtustega. Kõrge IL-17F viitab aktiveerunud Th17 rakkudele ning infektsioonid ja põletikud soodustavad muutusi lipiidide ainevahetuses ja kolesterooli väärtuste tõusu (Khovidhunkit *et al.*, 2004; Whitman *et al.*, 1999).

Leidsime, et meie uuritavatel esinev rasedusaegne kätevaheline vererõhu diferents oli positiivses seoses IL-10 tasemega. Kätevahelise süstoolse vererõhu erinevust seostatakse südameveresoonkonna haigustest tuleneva surmariskiga (Clark *et al.*, 2014, 2016). Meie

tulemused sarnanevad Guo *et al.* (2015) poolt leitud, mis näitas, et südamehaiguste esinemise korral on kõrgeenenud B-rakkude poolt IL-10 tootmine.

Käesolevas töös analüüsid lümfotsüütide regulatsioonis osalevaid tsütokiine, ilmnes, et AI-GDM uuritavate vereplasma IL-22 väärtused olid oluliselt kõrgemad võrdlusgrupi naistest. IL-22 on oluline metaboolsete häirete ja põletiku tekkes (Wang *et al.*, 2014). Viimati mainitu puhul IL-22 indutseerib epiteel- ja maksarakkude poolt akuutse faasi kemokiinide tootmist (Wolk *et al.*, 2004). Kuna IL-22 aktiveerib lümfotsüüte (Abbas *et al.*, 2014), siis seda tsütokiini on seostatud ka rasedusaegse autoimmuunse GDMi tekkes (Haller-Kikkatalo ja Uibo, 2014). Lisaks see, et IL-22 oli suvel madalam, näitab autoimmuunhaiguste hooajalisust (Holick, 2004).

Kemokiinidest IP-10 kõrgemad väärtused seostusid makrosoomse lapse sünniga. Kuna IP-10 seostatakse IR ja diabeedi esinemisega (Chang *et al.*, 2015), siis leitud tulemused olid ootustekohased. Veelgi enam, IP-10 kõrgemat taset peetakse ennetavaks biomarkeriks progressiivse kilpnäärme alatalitluse (hüpotüreoidismi) ja põletikuliste protsesside tagajärjel kahjustuva türeoidnäärme puhul (Ruffilli *et al.*, 2014).

Üha suurenev põletikuline seisund, sh põletikutsütokiinide kõrge tase ja aktiivne leukotsüütide migratsioon emakakaelas, platsentas ja lootemembraanides põhjustab sünnitusprotsessi algust ja toimumist (Thomson *et al.*, 1999). Seost MIP-1 β ja varasema sünnituse vahel on kirjeldatud infektsiooni põhjustatud patoloogia kujunemise läbi (Dudley *et al.*, 1995).

Magistritöö käigus selgus, et uuritavate jaotus alagruppidesse oli igati põhjendatud, sest need grupid erinesid oluliselt teineteisest autoreaktiivsuse, põletiku ja rasvumisega seotud parameetrite poolest. Seega GDM sisaldab vähemalt kaht erinevat haigust, milleks on autoimmuunne ning insuliinresistentsusel põhinev gestatsioonidiabeet. Töös määratud tsütokiinide väärtuste põhjal ei saa määrata uuritavatele GDM diagnoosi. Need on patoloogiaga assotsieeruvad markerid, mis on kasutatavad patsientide ja haiguse protsessi kirjeldamisel. Siinkohal kirjeldatud seosed on aluseks GDM alagruppide moodustamiseks nii edasistes uuringutes kui ka kliinilises haigete käsitlemisel.

Käesoleva uuringu tugevaks küljeks on selle uudsus ja tulevikus lihtne kohaldatavus kliinilisse praktikasse. Nimelt varasemalt on kirjanduse andmetel vaid spekulatsioonid võimalike GDM alagruppide olemasolu kohta, kuid antud töö proovis GDM alagruppe eristada, kasutades juba kliinilises praktikas kasutusel olevaid laboratoorseid teste. Lisaks eelnevale on antud magistritöö tugevaks küljeks ka põhjaliku andmestiku olemasolu ning analüüsimudelite kohandamise rakendamine seoseid mõjutavatele teguritele.

Praegused kliinilise GDMi diagnoosikriteeriumid tuvastavad rasedaid, kelle kõhunäärme insuliinitootlikus ei ole piisav glükoositaseme normis hoidmiseks ja võivad vajada ravi juba käesoleva raseduse ajal. GDMi edasiuurimine just alagruppidest lähtuvalt on oluline, sest lisaks ravi vajaduse tuvastamisele annab selline haigete uurimine parema võimaluse identifitseerida naisi, kes omavad hilisemas elus kõrget diabeedi riski ja jälgida diabeedi suhtes ka nende vastsündinuid.

6 JÄRELDUSED

Käesoleva magistritöö käigus saadud tulemustest võib teha järgmised järeldused:

- Meie tulemused tõestavad kirjanduses püstitatud hüpoteesi, mille kohaselt on GDM heterogeenne haigus koosnedes vähemalt kahest alagrupist. Nendeks on autoimmuunne gestatsioonidiabeedi grupp ja insuliinresistentsusel põhinev gestatsioonidiabeediga rasedate grupp.
- Praegused kliinilises praktikas kasutusel olevad GDMi diagnoosikriteeriumid lähtuvad eelkõige glükoosi ainevahetuse parameetritest ja identifitseerivad sellekohast ravi vajavad rasedad. Täna kasutusel olev GDM diagnostiline lähenemine jätab tuvastamata teatud osa autoimmuunse diabeedi riskiga naisi ning ei erista üldse GDM alagruppe teineteisest.
- Anamnestiliste andmete, verest määratud autoantikehade ja tsütokiinide väärtuste tulemusi analüüsides selgus, et kolm uuritavat gruppi reastusid järgmiselt: autoimmuunne diabeedi grupp – terve rasedus – insuliinresistentsusel põhinev grupp.
- Meie tulemused kirjeldavad autoantikehade ja tsütokiinide seost uuritavate ainevahetusparameetrite ja rasedustunnustega.
- Töö tulemused on aluseks edasistele uuringutele, et väljapakutud GDM alagruppide eristamise kriteeriumid leiaksid kasutust igapäevases kliinilises praktikas.

7 KOKKUVÕTE

Gestatsioondiabeet (GDM) on glükoosi ainevahetuse häire, mis tekib raseduse ajal ning taandub selle järgselt. Kõikidest rasedusjuhtudest on iga seitsmes mõjutatud GDMi esinemisest. Sellest lähtuvalt võib öelda, et GDM on sagedasem rasedusaegne endokriinsüsteemi häire. GDM suhkruainevahetuse häiret diagnoositakse riskigrupi naistel kasutades glükoosi tolerantsuse proovi testi. GDMiga kulgev rasedus mõjutab ebasoodsalt nii ema kui tema last ning on seotud 1. või 2. tüüpi diabeedi arenguga sünnitusjärgselt.

Ühe enam leidub kirjanduses viiteid sellele, et GDMi praegune tuvastamismeetod ei ole piisav, et tuvastada kõrge diabeedi riskiga rasedaid naisi tervetest. Praegused diagnoosikriteeriumid selekteerivad eelistatult insuliinresistentsusele kalduvad rasedad ning kõrge 2. tüüpi diabeedi riskiga rasedad naised tervete seast, kuid ei erista kõiki 1. ja 2. tüüpi diabeedi riskiga rasedaid teineteisest või tervetest.

Käesolevas töös analüüsiti rasedate naiste kliinilisi terviseandmeid, laboratoorseid parameetreid ning perifeersest verest määrati immuunsüsteemi regulatsioonimarkereid ja diabeediga assotsieeruvaid autoantikehi. Töös kasutati ensüümikaudset immunosorptsioonimeetodit ja selle analooge, kaudset immunofluorestsentsmeetodit ning R keel ja keskkonnas andmete statistilist analüüsi.

Töö eesmärgiks oli leida kliinilises praktikas kasutatavate parameetrite hulgast need, mille alusel oleks võimalik eristada GDMi ja selle riskiga rasedate hulgast haiguse alagruppe.

Kogutud kliiniliste anamnestiliste andmete ning töös tehtud katsete tulemusena moodustati uuritavatest kolm gruppi: autoimmuunse diabeedi riskiga rasedad, terved rasedad ja insuliinresistentsusega seotud gestatsioondiabeediga rasedad naised. Lisaks kirjeldati ja võrreldi tsütokiinide profiilide erinevusi äsja nimetatud GDM alagruppides.

Tulemused näitasid, et gestatsioondiabeedi jaotus alagruppidesse oli igati õigustatud, kuna kolm uuritavat gruppi erinesid oluliselt teineteisest. Antud töös hinnatud parameetrite alusel reastusid kolm uuritavat gruppi järgmiselt: autoimmuunse diabeedi grupp – terve rasedus – insuliinresistentsusel põhinev grupp. Töös selgus, et autoimmuunse GDM ja insuliinresistentsusel baseeruv GDM erinesid üksteisest ning neid on võimalik käsitleda iseseisvate GDM alagruppidena.

Meie uuringu tulemused kinnitavad, et GDM on heterogeenne haigus, mille sees eristuvad vähemalt kaks alagruppi. Selleks, et kliinilises praktikas eristada kõrge 1. ja 2. tüübi diabeedi riskiga rasedaid naisi on tarvis hinnata ümber haiguse diagnoosimise kriteeriumid. Lähtudes käesoleva magistritöö tulemustest on oluline GDMi edasi uurida, et mõista diabeedi eri tüüpide tekkemehhanisme nende varajases etapis.

Gestational Diabetes Mellitus includes at least two types of diseases - autoimmune and insulinresistence -based diabetes

Kristine Roos

Summary

Gestational Diabetes Mellitus (GDM) is a common glucose metabolism disorder that affects women during pregnancy. It appears or is first detected during pregnancy and manifests during the second trimester and regresses after pregnancy. GDM during gestation affects both the mother and the child. It is a high risk factor for developing type I or type II diabetes later in life.

The purpose of this thesis is to describe GDM pathology in patients and to measure the levels of immunoregulatory cytokines and the presence of autoantibodies. Furthermore, on the basis of acquired data, this thesis also aims to complement the diagnostic criteria of GDM and study the newly formed subgroups of the disease: the autoimmune GDM (AI-GDM) and insulin resistance GDM (IR-GDM).

From the results it was apparent that current diagnostic criteria only recognize glucose metabolism disorder during pregnancy in order to identify the need for therapy. However, these criteria fail to identify all diabetes-at-risk pregnant women, especially at risk to autoimmune diabetes with no insulinresistence and it does not distinguish pathogenic subgroups of GDM. Our results confirm the hypotheses presented in literature that GDM is not only a glucose metabolism disorder during pregnancy but can as well occur in parallel with autoimmune disorder or insulinresistence.

This thesis demonstrates the heterogeneity of GDM by revealing two subtypes: AI-GDM and IR-GDM. We also present our recommendations for new diagnostic criteria that describe, albeit in simplified manner. Further studies are warranted to further complement the diagnostic criteria and resolve the unknown mechanisms behind the appearance and progression of GDM.

TÄNUAVALDUSED

Magistritöö valmis Bio- ja Siirdemeditiini instituudi Immunoloogia osakonnas ja on üks osa nimetatud osakonnas, prof. Raivo Uiho juhtimisel, koostöös TÜ Kliinilise meditsiini instituudi, Sünnitusabi ja günekoloogia osakonnaga toimuvast gestatsioondiabeedi uuringust. Uuring on rahastatud Eesti Teadusagentuuri poolt (IUT20-43 ja IUT34-16).

Kõige enam soovin tänada oma juhendajat Kadri Haller-Kikkatalot väärtuslike nõuannete, kannatlikkuse, toetuse ja konstruktiivse kriitika eest.

Südamlikud tänusoovid kogu Bio- ja Siirdemeditiini instituudi Immunoloogia osakonna kollektiivile võimaluse eest tegeleda põneva teadusprojektiga meeldivas töökeskkonnas. Eelkõige tänan dr. Kaja Metsküla nõuannete eest ELISA testide tegemisel, Aili Tagomat juhendamaks tsütokiinide määramist ning Katrin Pruulit, Kristi Alnekit ja Helis Janson-Tasa uuritavate materjali kvaliteetse käsitlemise eest.

Lisaks soovin tänada doktor Anne Kirssi ja ämmaemandat Laura Laurenit SA TÜK Naistekliinikust patsientide kliinilise uurimise ning uuritava materjali kogumise eest.

Olen väga tänulik professor Andres Metspalule minu magistritöö kaasjuhendamise eest.

Veel soovin tänada pere ja sõpru toetava ning rõõmsameelse osavõtlikkuse eest.

KASUTATUD KIRJANDUS

Abbas, A.K., Lichtman, A.H.H., and Pillai, S. (2014). *Cellular and Molecular Immunology* (Elsevier Health Sciences).

Åberg, A., Westbom, L., and Källén, B. (2001). Congenital malformations among infants whose mothers had gestational diabetes or preexisting diabetes. *Early Hum. Dev.* 61, 85–95.

Achenbach, P., Lampasona, V., Landherr, U., Koczwara, K., Krause, S., Grallert, H., Winkler, C., Pflüger, M., Illig, T., Bonifacio, E., et al. (2009). Autoantibodies to zinc transporter 8 and SLC30A8 genotype stratify type 1 diabetes risk. *Diabetologia* 52, 1881–1888.

Alessi, M.C., Peiretti, F., Morange, P., Henry, M., Nalbene, G., and Juhan-Vague, I. (1997). Production of Plasminogen Activator Inhibitor 1 by Human Adipose Tissue: Possible Link Between Visceral Fat Accumulation and Vascular Disease. *Diabetes* 46, 860–867.

Allan, W.C., Haddow, J.E., Palomaki, G.E., Williams, J.R., Mitchell, M.L., Hermos, R.J., Faix, J.D., and Klein, R.Z. (2000). Maternal thyroid deficiency and pregnancy complications: implications for population screening. *J. Med. Screen.* 7, 127–130.

Andersen, M.K., Härkönen, T., Forsblom, C., Groop, P.-H., Knip, M., and Tuomi, T. (2013). Zinc transporter type 8 autoantibodies (ZnT8A): prevalence and phenotypic associations in latent autoimmune diabetes patients and patients with adult onset type 1 diabetes. *Autoimmunity* 46, 251–258.

Anderson, M.S., Thamotharan, M., Kao, D., Devaskar, S.U., Qiao, L., Friedman, J.E., and Hay, W.W. (2005). Effects of acute hyperinsulinemia on insulin signal transduction and glucose transporters in ovine fetal skeletal muscle. *Am. J. Physiol. - Regul. Integr. Comp. Physiol.* 288, R473–R481.

Andersson, C., Kolmodin, M., Ivarsson, S.-A., Carlsson, A., Forsander, G., Lindblad, B., Ludvigsson, J., Kockum, I., Marcus, C., Samuelsson, U., et al. (2014). Islet cell antibodies (ICA) identify autoimmunity in children with new onset diabetes mellitus negative for other islet cell antibodies. *Pediatr. Diabetes* 15, 336–344.

Arntzen, K.J., Lien, E., and Austgulen, R. (1997). Maternal serum levels of interleukin-6 and clinical characteristics of normal delivery at term. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 76, 55–60.

Ashkar, A.A., and Croy, B.A. (1999). Interferon- γ Contributes to the Normalcy of Murine Pregnancy. *Biol. Reprod.* 61, 493–502.

Assmann, A., Ueki, K., Winnay, J.N., Kadowaki, T., and Kulkarni, R.N. (2009). Glucose Effects on Beta-Cell Growth and Survival Require Activation of Insulin Receptors and Insulin Receptor Substrate 2. *Mol. Cell. Biol.* 29, 3219–3228.

Association, A.D. (2010). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 33, S62–S69.

Aste-Amezaga, M., D'Andrea, A., Kubin, M., and Trinchieri, G. (1994). Cooperation of Natural Killer Cell Stimulatory Factor/Interleukin-12 with Other Stimuli in the Induction of Cytokines and Cytotoxic Cell-Associated Molecules in Human T and NK Cells. *Cell. Immunol.* 156, 480–492.

Atègbo, J.-M., Grissa, O., Yessoufou, A., Hichami, A., Dramane, K.L., Moutairou, K., Miled, A., Grissa, A., Jerbi, M., Tabka, Z., et al. (2006). Modulation of Adipokines and Cytokines in Gestational Diabetes and Macrosomia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 91, 4137–4143.

Auwerx, J., Bouillon, R., Collen, D., and Geboers, J. (1988). Tissue-type plasminogen activator antigen and plasminogen activator inhibitor in diabetes mellitus. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 8, 68–72.

- Baekkeskov, S., Aanstoot, H.-J., Christgai, S., Reetz, A., Solimena, M., Cascalho, M., Folli, F., Richter-Olesen, H., and Camilli, P.-D. (1990). Identification of the 64K autoantigen in insulin-dependent diabetes as the GABA-synthesizing enzyme glutamic acid decarboxylase. *Nature* 347, 151–156.
- Baggiolini, M. (1998). Chemokines and leukocyte traffic. *Nature* 392, 565–568.
- Barbour, L.A., McCurdy, C.E., Hernandez, T.L., Kirwan, J.P., Catalano, P.M., and Friedman, J.E. (2007). Cellular Mechanisms for Insulin Resistance in Normal Pregnancy and Gestational Diabetes. *Diabetes Care* 30, S112–S119.
- Bartha, J.L., Martinez-del-Fresno, P., and Comino-Delgado, R. (2001). Postpartum metabolism and autoantibody markers in women with gestational diabetes mellitus diagnosed in early pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 184, 965–970.
- Basuki, W., Hiromura, M., and Sakurai, H. (2007). Insulinomimetic Zn complex (Zn(opt)2) enhances insulin signaling pathway in 3T3-L1 adipocytes. *J. Inorg. Biochem.* 101, 692–699.
- Bendtzen, K., Mandrup-Poulsen, T., Nerup, J., Nielsen, J.H., Dinarello, C.A., and Svenson, M. (1986). Cytotoxicity of human pI 7 interleukin-1 for pancreatic islets of Langerhans. *Science* 232, 1545–1547.
- Ben-Haroush, A., Yogev, Y., and Hod, M. (2004). Epidemiology of gestational diabetes mellitus and its association with Type 2 diabetes. *Diabet. Med.* 21, 103–113.
- Berg, A.H., Combs, T.P., Du, X., Brownlee, M., and Scherer, P.E. (2001). The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat. Med.* 7, 947–953.
- Bonner-Weir, S. (2000). Islet growth and development in the adult. *J. Mol. Endocrinol.* 24, 297–302.
- van den Boogaard, E., Vissenberg, R., Land, J.A., van Wely, M., van der Post, J.A.M., Goddijn, M., and Bisschop, P.H. (2011). Significance of (sub)clinical thyroid dysfunction and thyroid autoimmunity before conception and in early pregnancy: a systematic review. *Hum. Reprod. Update* 17, 605–619.
- Bradley, L.M., Asensio, V.C., Schioetz, L.-K., Harbertson, J., Krah, T., Patstone, G., Woolf, N., Campbell, I.L., and Sarvetnick, N. (1999). Islet-Specific Th1, But Not Th2, Cells Secrete Multiple Chemokines and Promote Rapid Induction of Autoimmune Diabetes. *J. Immunol.* 162, 2511–2520.
- Casey, B.M., Dashe, J.S., Wells, C.E., McIntire, D.D., Byrd, W., Leveno, K.J., and Cunningham, F.G. (2005). Subclinical hypothyroidism and pregnancy outcomes. *Obstet. Gynecol.* 105, 239–245.
- Catalano, P.M., Huston, L., Amini, S.B., and Kalhan, S.C. (1999). Longitudinal changes in glucose metabolism during pregnancy in obese women with normal glucose tolerance and gestational diabetes mellitus. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 180, 903–916.
- Chang, C.-C., Wu, C.-L., Su, W.-W., Shih, K.-L., Tarng, D.-C., Chou, C.-T., Chen, T.-Y., Kor, C.-T., and Wu, H.-M. (2015). Interferon gamma-induced protein 10 is associated with insulin resistance and incident diabetes in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Sci. Rep.* 5, 10096.
- Chausmer, A.B. (1998). Zinc, Insulin and Diabetes. *J. Am. Coll. Nutr.* 17, 109–115.
- Christiansen, T., Richelsen, B., and Bruun, J.M. (2004). Monocyte chemoattractant protein-1 is produced in isolated adipocytes, associated with adiposity and reduced after weight loss in morbid obese subjects. *Int. J. Obes.* 29, 146–150.
- Clark, C.E., Steele, A.M., Taylor, R.S., Shore, A.C., Ukoumunne, O.C., and Campbell, J.L. (2014). Interarm Blood Pressure Difference in People With Diabetes: Measurement and Vascular and Mortality Implications. *Diabetes Care* 37, 1613–1620.

- Clark, C.E., Taylor, R.S., Butcher, I., Stewart, M.C., Price, J., Fowkes, F.G.R., Shore, A.C., and Campbell, J.L. (2016). Inter-arm blood pressure difference and mortality: a cohort study in an asymptomatic primary care population at elevated cardiovascular risk. *Br J Gen Pr.* 66, e297–e308.
- Coultrip, L.L., Lien, J.M., Gomez, R., Kapernick, P., Khoury, A., and Grossman, J.H. (1994). The value of amniotic fluid interleukin-6 determination in patients with preterm labor and intact membranes in the detection of microbial invasion of the amniotic cavity. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 171, 901–911.
- Curat, C.A., Wegner, V., Sengenès, C., Miranville, A., Tonus, C., Busse, R., and Bouloumié, A. (2006). Macrophages in human visceral adipose tissue: increased accumulation in obesity and a source of resistin and visfatin. *Diabetologia* 49, 744–747.
- Dandona, P., Aljada, A., and Bandyopadhyay, A. (2004). Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol.* 25, 4–7.
- Davis, L.E., Leveno, K.J., and Cunningham, F.G. (1988). Hypothyroidism complicating pregnancy. *Obstet. Gynecol.* 72, 108–112.
- Dereke, J., Nilsson, C., Landin-Olsson, M., and Hillman, M. (2012). Prevalence of zinc transporter 8 antibodies in gestational diabetes mellitus. *Diabet. Med.* 29, e436–e439.
- Desoye, G., and Mouzon, S.H. (2007). The Human Placenta in Gestational Diabetes Mellitus The insulin and cytokine network. *Diabetes Care* 30, S120–S126.
- Dinarello, C.A. (1991). Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism. *Blood* 77, 1627–1652.
- Dinarello, C.A. (2009). Immunological and Inflammatory Functions of the Interleukin-1 Family. *Annu. Rev. Immunol.* 27, 519–550.
- Donath, M.Y., Böni-Schnetzler, M., Ellingsgaard, H., and Ehse, J.A. (2009). Islet Inflammation Impairs the Pancreatic β -Cell in Type 2 Diabetes. *Physiology* 24, 325–331.
- Dorner, B.G., Scheffold, A., Rolph, M.S., Hüser, M.B., Kaufmann, S.H.E., Radbruch, A., Flesch, I.E.A., and Krocze, R.A. (2002). MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES, and ATAC/lymphotactin function together with IFN- γ as type 1 cytokines. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 99, 6181–6186.
- Dozio, N., Beretta, A., Belloni, C., Castiglioni, M., Rosa, S., Bosi, E., and Bonifacio, E. (1997). Low Prevalence of Islet Autoantibodies in Patients With Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 20, 81–83.
- Dudley, D.J., Spencer, S., Edwin, S., and Mitchell, M.D. (1995). Regulation of human decidual cell macrophage inflammatory protein-1 alpha (MIP-1 alpha) production by inflammatory cytokines. *Am. J. Reprod. Immunol. N. Y. N 1989* 34, 231–235.
- Egeland, G.M., Skjærven, R., and Irgens, L.M. (2000). Birth characteristics of women who develop gestational diabetes: population based study. *BMJ* 321, 546–547.
- Eglit, T., Ringmets, I., and Lember, M. (2013). Obesity, High-Molecular-Weight (HMW) Adiponectin, and Metabolic Risk Factors: Prevalence and Gender-Specific Associations in Estonia. *PLOS ONE* 8, e73273.
- Emamaullee, J.A., Davis, J., Merani, S., Toso, C., Elliott, J.F., Thiesen, A., and Shapiro, A.M.J. (2009). Inhibition of Th17 Cells Regulates Autoimmune Diabetes in NOD Mice. *Diabetes* 58, 1302–1311.
- Erlander, M.G., Tillakaratne, N.J.K., Feldblum, S., Patel, N., and Tobin, A.J. (1991). Two genes encode distinct glutamate decarboxylases. *Neuron* 7, 91–100.

- Fasshauer, M., Kralisch, S., Klier, M., Lossner, U., Bluher, M., Klein, J., and Paschke, R. (2003). Adiponectin gene expression and secretion is inhibited by interleukin-6 in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* *301*, 1045–1050.
- Feldt-Rasmussen, U., Madsen, M.H., Rasmussen, N.G., Hegedüs, L., and Hornnes, P. (1990). Anti-Thyroid Peroxidase Antibodies During Pregnancy and Postpartum. Relation to Postpartum Thyroiditis. *Autoimmunity* *6*, 211–214.
- Ferrara, A. (2007). Increasing Prevalence of Gestational Diabetes Mellitus A public health perspective. *Diabetes Care* *30*, S141–S146.
- Ferreira, R.C., Simons, H.Z., Thompson, W.S., Cutler, A.J., Dopico, X.C., Smyth, D.J., Mashar, M., Schuilenburg, H., Walker, N.M., Dunger, D.B., et al. (2015). IL-21 production by CD4⁺ effector T cells and frequency of circulating follicular helper T cells are increased in type 1 diabetes patients. *Diabetologia* *58*, 781–790.
- Fiorentino, D.F., Bond, M.W., and Mosmann, T.R. (1989). Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J. Exp. Med.* *170*, 2081–2095.
- Fossiez, F., Djossou, O., Chomarat, P., Flores-Romo, L., Ait-Yahia, S., Maat, C., Pin, J.J., Garrone, P., Garcia, E., Saeland, S., et al. (1996). T cell interleukin-17 induces stromal cells to produce proinflammatory and hematopoietic cytokines. *J. Exp. Med.* *183*, 2593–2603.
- Frederich, R.C., Löllmann, B., Hamann, A., Napolitano-Rosen, A., Kahn, B.B., Lowell, B.B., and Flier, J.S. (1995). Expression of ob mRNA and its encoded protein in rodents. Impact of nutrition and obesity. *J. Clin. Invest.* *96*, 1658–1663.
- Freinkel, N., Metzger, B.E., Phelps, R.L., Dooley, S.L., Ogata, E.S., Radvany, R.M., and Belton, A. (1985). Gestational Diabetes Mellitus: Heterogeneity of Maternal Age, Weight, Insulin Secretion, HLA Antigens, and Islet Cell Antibodies and the Impact of Maternal Metabolism on Pancreatic B-Cell and Somatic Development in the Offspring. *Diabetes* *34*, 1–7.
- Friedman, J.E., Ishizuka, T., Shao, J., Huston, L., Highman, T., and Catalano, P. (1999). Impaired glucose transport and insulin receptor tyrosine phosphorylation in skeletal muscle from obese women with gestational diabetes. *Diabetes* *48*, 1807–1814.
- Füchtenbusch, M., Ferber, K., Standl, E., and Ziegler, A.-G. (1997). Prediction of Type 1 Diabetes Postpartum in Patients With Gestational Diabetes Mellitus by Combined Islet Cell Autoantibody Screening: A Prospective Multicenter Study. *Diabetes* *46*, 1459–1467.
- Gajewski, T.F., and Fitch, F.W. (1988). Anti-proliferative effect of IFN-gamma in immune regulation. I. IFN-gamma inhibits the proliferation of Th2 but not Th1 murine helper T lymphocyte clones. *J. Immunol.* *140*, 4245–4252.
- Gaudreau, S., Guindi, C., Ménard, M., Besin, G., Dupuis, G., and Amrani, A. (2007). Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor Prevents Diabetes Development in NOD Mice by Inducing Tolerogenic Dendritic Cells that Sustain the Suppressive Function of CD4⁺CD25⁺ Regulatory T Cells. *J. Immunol.* *179*, 3638–3647.
- Gerhardt, C.C., Romero, I.A., Canello, R., Camoin, L., and Strosberg, A.D. (2001). Chemokines control fat accumulation and leptin secretion by cultured human adipocytes. *Mol. Cell. Endocrinol.* *175*, 81–92.
- Gerstein, H.C. (1993). Incidence of Postpartum Thyroid Dysfunction in Patients with Type I Diabetes Mellitus. *Ann. Intern. Med.* *118*, 419–423.

- Gewurz, H., Mold, C., Siegel, J., and Fiedel, B. (1982). C-reactive protein and the acute phase response. *Adv. Intern. Med.* 27, 345–372.
- Giometto, B., Miotto, D., Faresin, F., Argentiero, V., Scaravilli, T., and Tavolato, B. (1996). Anti-gabaergic neuron autoantibodies in a patient with stiff-man syndrome and ataxia. *J. Neurol. Sci.* 143, 57–59.
- Gradel, K.O., Nielsen, S.L., Pedersen, C., Knudsen, J.D., Østergaard, C., Arpi, M., Jensen, T.G., Kolmos, H.J., Søgaard, M., Lassen, A.T., et al. (2016). Seasonal Variation of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Streptococcus pneumoniae* Bacteremia According to Acquisition and Patient Characteristics: A Population-Based Study. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 1–8.
- Grant, P.T., Coombs, T.L., and Frank, B.H. (1972). Differences in the nature of the interaction of insulin and proinsulin with zinc. *Biochem. J.* 126, 433–440.
- Groop, L., Miettinen, A., Groop, P.-H., Meri, S., Koskimies, S., and Bottazzo, G.F. (1988). Organ-Specific Autoimmunity and HLA-DR Antigens as Markers for β -Cell Destruction in Patients With Type II Diabetes. *Diabetes* 37, 99–103.
- De Groot, L., Abalovich, M., Alexander, E.K., Amino, N., Barbour, L., Cobin, R.H., Eastman, C.J., Lazarus, J.H., Luton, D., Mandel, S.J., et al. (2012). Management of Thyroid Dysfunction during Pregnancy and Postpartum: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 97, 2543–2565.
- Grossmann, V., Schmitt, V.H., Zeller, T., Panova-Noeva, M., Schulz, A., Laubert-Reh, D., Juenger, C., Schnabel, R.B., Abt, T.G.J., Laskowski, R., et al. (2015). Profile of the Immune and Inflammatory Response in Individuals With Prediabetes and Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 38, 1356–1364.
- Guariguata, L., Linnenkamp, U., Beagley, J., Whiting, D.R., and Cho, N.H. (2014). Global estimates of the prevalence of hyperglycaemia in pregnancy. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 103, 176–185.
- Guichard, C., Pedruzzi, E., Dewas, C., Fay, M., Pouzet, C., Bens, M., Vandewalle, A., Ogier-Denis, E., Gougerot-Pocidalo, M.-A., and Elbim, C. (2005). Interleukin-8-induced Priming of Neutrophil Oxidative Burst Requires Sequential Recruitment of NADPH Oxidase Components into Lipid Rafts. *J. Biol. Chem.* 280, 37021–37032.
- Gunton, J.E., Hitchman, R., and McElduff, A. (2001). Effects of ethnicity on glucose tolerance, insulin resistance and beta cell function in 223 women with an abnormal glucose challenge test during pregnancy. *Aust. N. Z. J. Obstet. Gynaecol.* 41, 182–186.
- Guo, Y., Cen, Z., Wei, B., Wu, W., and Zhou, Q. (2015). Increased circulating interleukin 10-secreting B cells in patients with dilated cardiomyopathy. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 8, 8107–8114.
- Halaas, J.L., Gajiwala, K.S., Maffei, M., Cohen, S.L., Chait, B.T., Rabinowitz, D., Lallone, R.L., Burley, S.K., and Friedman, J.M. (1995). Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 269, 543–546.
- Haller-Kikkatalo, K., and Uibo, R. (2014). Clinical Recommendations for the Use of Islet Cell Autoantibodies to Distinguish Autoimmune and Non-Autoimmune Gestational Diabetes. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 50, 23–33.
- Haller-Kikkatalo, K., Pruul, K., Kisand, K., Nemvalts, V., Reimand, K., and Uibo, R. (2015). GADA and anti-ZnT8 complicate the outcome of phenotypic type 2 diabetes of adults. *Eur. J. Clin. Invest.* 45, 255–262.

- Hämäläinen, A.-M., Ronkainen, M.S., Åkerblom, H.K., and Knip The Finnish TRIGR Study Group, M. (2000). Postnatal Elimination of Transplacentally Acquired Disease-Associated Antibodies in Infants Born to Families with Type 1 Diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85, 4249–4253.
- Haus, E., and Smolensky, M.H. (1999). Biologic Rhythms in the Immune System. *Chronobiol. Int.* 16, 581–622.
- Hayashi, T., Morimoto, M., Iwata, H., and Onodera, T. (1998). Interferon- γ plays a role in pancreatic islet-cell destruction of reovirus type 2 -induced diabetes-like syndrome in DBA/1 suckling mice. *Int. J. Exp. Pathol.* 79, 313–320.
- Hay Jr, W.W. (2012). Care of the infant of the diabetic mother. *Curr. Diab. Rep.* 12, 4–15.
- Heinrich, P.C., Castell, J.V., and Andus, T. (1990). Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem. J.* 265, 621–636.
- Heitritter, S.M., Solomon, C.G., Mitchell, G.F., Skali-Ounis, N., and Seely, E.W. (2005). Subclinical Inflammation and Vascular Dysfunction in Women with Previous Gestational Diabetes Mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90, 3983–3988.
- Henson, M.C., Swan, K.F.M., and O’neil, J.S. (1998). Expression of Placental Leptin and Leptin Receptor Transcripts in Early Pregnancy and at Term. *Obstet. Gynecol.* 92, 1020–1028.
- Herder, C., Baumert, J., Thorand, B., Koenig, W., De Jager, W., Meisinger, C., Illig, T., Martin, S., and Kolb, H. (2006). Chemokines as risk factors for type 2 diabetes: results from the MONICA/KORA Augsburg study, 1984–2002. *Diabetologia* 49, 921–929.
- Holick, M.F. (2004). Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am. J. Clin. Nutr.* 80, 1678S – 1688S.
- Honkanen, J., Nieminen, J.K., Gao, R., Luopajarvi, K., Salo, H.M., Ilonen, J., Knip, M., Otonkoski, T., and Vaarala, O. (2010). IL-17 Immunity in Human Type 1 Diabetes. *J. Immunol.* 185, 1959–1967.
- Hotamisligil, G.S., Arner, P., Caro, J.F., Atkinson, R.L., and Spiegelman, B.M. (1995). Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 95, 2409–2415.
- Huang, G., Xiang, Y., Pan, L., Li, X., Luo, S., and Zhou, Z. (2013). Zinc transporter 8 autoantibody (ZnT8A) could help differentiate latent autoimmune diabetes in adults (LADA) from phenotypic type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 29, 363–368.
- Institute of Medicine (1990). Nutrition During Pregnancy: Part I: Weight Gain, Part II: Nutrient Supplements (Washington, D.C.: National Academies Press).
- International Diabetes Federation, 2015 IDF Diabetes Atlas Seventh Edition 2015 (International Diabetes Federation, 2015).
- Järvelä, I.Y., Juutinen, J., Koskela, P., Hartikainen, A.-L., Kulmala, P., Knip, M., and Tapanainen, J.S. (2006). Gestational Diabetes Identifies Women at Risk for Permanent Type 1 and Type 2 Diabetes in Fertile Age Predictive role of autoantibodies. *Diabetes Care* 29, 607–612.
- Kahn, S.E., Zraika, S., Utzschneider, K.M., and Hull, R.L. (2009). The beta cell lesion in type 2 diabetes: there has to be a primary functional abnormality. *Diabetologia* 52, 1003–1012.
- Kanda, H. (2006). MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. *J. Clin. Invest.* 116, 1494–1505.

- Karakosta, P., Alegakis, D., Georgiou, V., Roumeliotaki, T., Fthenou, E., Vassilaki, M., Boumpas, D., Castanas, E., Kogevinas, M., and Chatzi, L. (2012). Thyroid Dysfunction and Autoantibodies in Early Pregnancy Are Associated with Increased Risk of Gestational Diabetes and Adverse Birth Outcomes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 97, 4464–4472.
- Karlsen, A.E., Hagopian, W.A., Grubin, C.E., Dube, S., Disteché, C.M., Adler, D.A., Bärmeier, H., Mathewes, S., Grant, F.J., and Foster, D. (1991). Cloning and primary structure of a human islet isoform of glutamic acid decarboxylase from chromosome 10. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 88, 8337–8341.
- Karupiah, G., Xie, Q.W., Buller, R.M., Nathan, C., Duarte, C., and MacMicking, J.D. (1993). Inhibition of viral replication by interferon-gamma-induced nitric oxide synthase. *Science* 261, 1445–1448.
- Katila, H., Cantell, K., Appelberg, B., and Rimón, R. (1993). Is There a Seasonal Variation in the Interferon-Producing Capacity of Healthy Subjects? *J. Interferon Res.* 13, 233–234.
- Keller, J.M., and Krohmer, J.S. (1968). Insulin transfer in the isolated human placenta. *Obstet. Gynecol.* 32, 77–80.
- Kelso, A. (1998). Cytokines: Principles and prospects. *Immunol. Cell Biol.* 76, 300–317.
- Khovidhunkit, W., Kim, M.-S., Memon, R.A., Shigenaga, J.K., Moser, A.H., Feingold, K.R., and Grunfeld, C. (2004). Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host. *J. Lipid Res.* 45, 1169–1196.
- Kim, J., Namchuk, M., Bugawan, T., Fu, Q., Jaffe, M., Shi, Y., Aanstoot, H.J., Turck, C.W., Erlich, H., Lennon, V., et al. (1994). Higher autoantibody levels and recognition of a linear NH₂-terminal epitope in the autoantigen GAD65, distinguish stiff-man syndrome from insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Exp. Med.* 180, 595–606.
- King, H. (1998). Epidemiology of glucose intolerance and gestational diabetes in women of childbearing age. *Diabetes Care* 21, B9.
- Kleiblova, P., Dostalova, I., Bartlova, M., Lacinova, Z., Ticha, I., Krejci, V., Springer, D., Kleibl, Z., and Haluzik, M. (2010). Expression of adipokines and estrogen receptors in adipose tissue and placenta of patients with gestational diabetes mellitus. *Mol. Cell. Endocrinol.* 314, 150–156.
- Kleppner, S.R., and Tobin, A.J. (2002). GABA A2 - Ramachandran, V.S. In *Encyclopedia of the Human Brain*, (New York: Academic Press), pp. 353–367.
- Krause, S., Chmiel, R., Bonifacio, E., Scholz, M., Powell, M., Furmaniak, J., Rees Smith, B., Ziegler, A.-G., and Achenbach, P. (2012). IA-2 autoantibody affinity in children at risk for type 1 diabetes. *Clin. Immunol.* 145, 224–229.
- Kühl, C. (1998). Etiology and pathogenesis of gestational diabetes. *Diabetes Care* 21 Suppl 2, B19–B26.
- Lambadiari, V., Mitrou, P., Maratou, E., Raptis, A.E., Tountas, N., Raptis, S.A., and Dimitriadis, G. (2010). Thyroid hormones are positively associated with insulin resistance early in the development of type 2 diabetes. *Endocrine* 39, 28–32.
- Lan, M.S., Lu, J., Goto, Y., and Notkins, A.L. (1994). Molecular Cloning and Identification of a Receptor-Type Protein Tyrosine Phosphatase, IA-2, from Human Insulinoma. *DNA Cell Biol.* 13, 505–514.
- Landon, M.B., Spong, C.Y., Thom, E., Carpenter, M.W., Ramin, S.M., Casey, B., Wapner, R.J., Varner, M.W., Rouse, D.J., Thorp, J.M.J., et al. (2009). A Multicenter, Randomized Trial of Treatment for Mild Gestational Diabetes. *N. Engl. J. Med.* 361, 1339–1348.

- Langer, O., Yogeve, Y., Most, O., and Xenakis, E.M.J. (2005). Gestational diabetes: The consequences of not treating. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 192, 989–997.
- Lawlor, D.A. (2013). The Society for Social Medicine John Pemberton Lecture 2011. Developmental overnutrition—an old hypothesis with new importance? *Int. J. Epidemiol.* 42, 7–29.
- Layman, D.K., Shiue, H., Sather, C., Erickson, D.J., and Baum, J. (2003). Increased Dietary Protein Modifies Glucose and Insulin Homeostasis in Adult Women during Weight Loss. *J. Nutr.* 133, 405–410.
- Leiva, A. de, Mauricio, D., and Corcoy, R. (2007). Diabetes-Related Autoantibodies and Gestational Diabetes. *Diabetes Care* 30, S127–S133.
- Lepercq, J., Cauzac, M., Lahlou, N., Timsit, J., Girard, J., Auwerx, J., and Mouzon, S.H. (1998). Overexpression of placental leptin in diabetic pregnancy: a critical role for insulin. *Diabetes* 47, 847–850.
- Lichtman, A.H., Chin, J., Schmidt, J.A., and Abbas, A.K. (1988). Role of interleukin 1 in the activation of T lymphocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 85, 9699–9703.
- Littorin, B., Sundkvist, G., Hagopian, W., Landin-Olsson, M., Lernmark, A., Ostman, J., Arnqvist, H.J., Blohmé, G., Bolinder, J., Eriksson, J.W., et al. (1999). Islet cell and glutamic acid decarboxylase antibodies present at diagnosis of diabetes predict the need for insulin treatment. A cohort study in young adults whose disease was initially labeled as type 2 or unclassifiable diabetes. *Diabetes Care* 22, 409–412.
- Loh, T.P., Tee, J.C.S., Tee, N.W.S., Cheng, W.L., Thevarajah, M., Sabir, N., Chew, Y.Y., Sethi, S.K., and Khoo, C.M. (2016). Association between thyroid function tests and anti-thyroid peroxidase (TPO) antibodies in pregnancy. *Endocrine*.
- Lord, G.M., Matarese, G., Howard, J.K., Baker, R.J., Bloom, S.R., and Lechler, R.I. (1998). Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature* 394, 897–901.
- Maedler, K., Sergeev, P., Ris, F., Oberholzer, J., Joller-Jemelka, H.I., Spinas, G.A., Kaiser, N., Halban, P.A., and Donath, M.Y. (2002). Glucose-induced β cell production of IL-1 β contributes to glucotoxicity in human pancreatic islets. *J. Clin. Invest.* 110, 851–860.
- Maes, M., Song, C., Lin, A., De Jongh, R., Van Gastel, A., Kenis, G., Bosmans, E., De Meester, I., Benoy, I., Neels, H., et al. (1998). THE EFFECTS OF PSYCHOLOGICAL STRESS ON HUMANS: INCREASED PRODUCTION OF PRO-INFLAMMATORY CYTOKINES AND Th1-LIKE RESPONSE IN STRESS-INDUCED ANXIETY. *Cytokine* 10, 313–318.
- Malefyt, R. de W., Abrams, J., Bennett, B., Figdor, C.G., and Vries, J.E. de (1991). Interleukin 10(IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J. Exp. Med.* 174, 1209–1220.
- Maleki, N., and Tavosi, Z. (2015). Evaluation of thyroid dysfunction and autoimmunity in gestational diabetes mellitus and its relationship with postpartum thyroiditis. *Diabet. Med.* 32, 206–212.
- Malter, M.P., Helmstaedter, C., Urbach, H., Vincent, A., and Bien, C.G. (2010). Antibodies to glutamic acid decarboxylase define a form of limbic encephalitis. *Ann. Neurol.* 67, 470–478.
- Martikainen, A., Saukkonen, T., Kulmala, P.K., Reijonen, H., Ilonen, J., Teramo, K., Koskela, P., Knip, M., and Åkerblom, H.K. (1996). Disease-Associated Antibodies in Offspring of Mothers with IDDM. *Diabetes* 45, 1706–1710.

- Martín-Romero, C., Santos-Alvarez, J., Goberna, R., and Sánchez-Margalet, V. (2000). Human Leptin Enhances Activation and Proliferation of Human Circulating T Lymphocytes. *Cell. Immunol.* 199, 15–24.
- Matsubara, M., Maruoka, S., and Katayose, S. (2002). Inverse relationship between plasma adiponectin and leptin concentrations in normal-weight and obese women. *Eur. J. Endocrinol.* 147, 173–180.
- Mavri, A., Alessi, M.C., Bastelica, D., Geel-Georgelin, O., Fina, F., Sentocnik, J.T., Stegnar, M., and Juhan-Vague, I. (2001). Subcutaneous abdominal, but not femoral fat expression of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) is related to plasma PAI-1 levels and insulin resistance and decreases after weight loss. *Diabetologia* 44, 2025–2031.
- Mayrhofer, M., Rabin, D., Messenger, L., Standl, E., and Ziegler, A. (1995). Value of ICA512 antibodies for prediction and diagnosis of type 1 diabetes. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes Off. J. Ger. Soc. Endocrinol. Ger. Diabetes Assoc.* 104, 228–234.
- Mehta, N.N., McGillicuddy, F.C., Anderson, P.D., Hinkle, C.C., Shah, R., Pruscino, L., Tabita-Martinez, J., Sellers, K.F., Rickels, M.R., and Reilly, M.P. (2010). Experimental Endotoxemia Induces Adipose Inflammation and Insulin Resistance in Humans. *Diabetes* 59, 172–181.
- Mehta, S., Nuamah, I., and Kalhan, S. (1991). Altered Diastolic Function in Asymptomatic Infants of Mothers With Gestational Diabetes. *Diabetes* 40, 56–60.
- Metzger, B.E., Buchanan, T.A., Coustan, D.R., Leiva, A. de, Dunger, D.B., Hadden, D.R., Hod, M., Kitzmiller, J.L., Kjos, S.L., Oats, J.N., et al. (2007). Summary and Recommendations of the Fifth International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 30, S251–S260.
- Mills, K.H.G., Dungan, L.S., Jones, S.A., and Harris, J. (2013). The role of inflammasome-derived IL-1 in driving IL-17 responses. *J. Leukoc. Biol.* 93, 489–497.
- Mohamed-Ali, V., Pinkney, J.H., and Coppack, S.W. (1998). Adipose tissue as an endocrine and paracrine organ. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. J. Int. Assoc. Study Obes.* 22, 1145–1158.
- Murayama, T., Kuno, K., Jisaki, F., Obuchi, M., Sakamuro, D., Furukawa, T., Mukaida, N., and Matsushima, K. (1994). Enhancement human cytomegalovirus replication in a human lung fibroblast cell line by interleukin-8. *J. Virol.* 68, 7582–7585.
- Myrianthefs, P., Karatzas, S., Venetsanou, K., Grouzi, E., Evagelopoulou, P., Boutzouka, E., Fildissis, G., Spiliotopoulou, I., and Baltopoulos, G. (2003). Seasonal variation in whole blood cytokine production after LPS stimulation in normal individuals. *Cytokine* 24, 286–292.
- Negro, R., Schwartz, A., Gismondi, R., Tinelli, A., Mangieri, T., and Stagnaro-Green, A. (2010). Universal Screening Versus Case Finding for Detection and Treatment of Thyroid Hormonal Dysfunction During Pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 95, 1699–1707.
- Nilsson, C., Ursing, D., Törn, C., Aberg, A., and Landin-Olsson, M. (2007). Presence of GAD antibodies during gestational diabetes mellitus predicts type 1 diabetes. *Diabetes Care* 30, 1968–1971.
- Niskanen, L.K., Tuomi, T., Karjalainen, J., Groop, L.C., and Uusitupa, M.I.J. (1995). GAD Antibodies in NIDDM: Ten-year follow-up from the diagnosis. *Diabetes Care* 18, 1557–1565.
- Nomura, S., Shouzu, A., Omoto, S., Nishikawa, M., and Fukuhara, S. (2000). Significance of chemokines and activated platelets in patients with diabetes. *Clin. Exp. Immunol.* 121, 437–443.
- Nordic Council of Ministers, N.C. of M. (2008). Nordic Nutrition Recommendations 2012. *Nord. Nutr. Recomm.* 2012 5, 1–3.

- Notkins, A.L., and Lernmark, Å. (2001). Autoimmune type 1 diabetes: resolved and unresolved issues. *J. Clin. Invest.* 108, 1247–1252.
- Nussey, S., and Whitehead, S. (2001). The endocrine pancreas.
- Olivieri, A., Valensise, H., Magnani, F., Medda, E., Angelis, S.D., D'Archivio, M., Sorcini, M., Carta, S., Baccarini, S., and Romanini, C. (2000). High frequency of antithyroid autoantibodies in pregnant women at increased risk of gestational diabetes mellitus. *Eur. J. Endocrinol.* 143, 741–747.
- Papathanassoglou, E., El-Haschimi, K., Li, X.C., Matarese, G., Strom, T., and Mantzoros, C. (2006). Leptin Receptor Expression and Signaling in Lymphocytes: Kinetics During Lymphocyte Activation, Role in Lymphocyte Survival, and Response to High Fat Diet in Mice. *J. Immunol.* 176, 7745–7752.
- Penaranda, C., Kuswanto, W., Hofmann, J., Kenefack, R., Narendran, P., Walker, L.S.K., Bluestone, J.A., Abbas, A.K., and Dooms, H. (2012). IL-7 receptor blockade reverses autoimmune diabetes by promoting inhibition of effector/memory T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 109, 12668–12673.
- Peng, J., Yang, X.O., Chang, S.H., Yang, J., and Dong, C. (2009). IL-23 signaling enhances Th2 polarization and regulates allergic airway inflammation. *Cell Res.* 20, 62–71.
- Perussia, B., Chan, S.H., D'Andrea, A., Tsuji, K., Santoli, D., Pospisil, M., Young, D., Wolf, S.F., and Trinchieri, G. (1992). Natural killer (NK) cell stimulatory factor or IL-12 has differential effects on the proliferation of TCR-alpha beta+, TCR-gamma delta+ T lymphocytes, and NK cells. *J. Immunol.* 149, 3495–3502.
- Petersen, J.S., Dyrberg, T., Damm, P., Kühl, C., Mølsted-Pedersen, L., and Buschard, K. (1996). GAD65 autoantibodies in women with gestational or insulin dependent diabetes mellitus diagnosed during pregnancy. *Diabetologia* 39, 1329–1333.
- Petruzelkova, L., Ananieva-Jordanova, R., Vcelakova, J., Vesely, Z., Stechova, K., Lebl, J., Dusatkova, P., Sumnik, Z., Coles, R., Powell, M., et al. (2014). The dynamic changes of zinc transporter 8 autoantibodies in Czech children from the onset of Type 1 diabetes mellitus. *Diabet. Med.* 31, 165–171.
- Pihoker, C., Gilliam, L.K., Hampe, C.S., and Lernmark, Å. (2005). Autoantibodies in Diabetes. *Diabetes* 54, S52–S61.
- Pitcher-Wilmott, R.W., Hindocha, P., and Wood, C.B. (1980). The placental transfer of IgG subclasses in human pregnancy. *Clin. Exp. Immunol.* 41, 303–308.
- Polonsky, K.S., Licinio-Paixao, J., Given, B.D., Pugh, W., Rue, P., Galloway, J., Karrison, T., and Frank, B. (1986). Use of biosynthetic human C-peptide in the measurement of insulin secretion rates in normal volunteers and type I diabetic patients. *J. Clin. Invest.* 77, 98–105.
- Pop, V.J.M., Rooy, H. de, Vader, H.L., van der Heide, D., van Son, M., and Komproe, I.H. (1993). Microsomal antibodies during gestation in relation to postpartum thyroid dysfunction and depression. *Acta Endocrinol. (Copenh.)* 129, 26–30.
- Pot, C., Apetoh, L., Awasthi, A., and Kuchroo, V.K. (2011). Induction of regulatory Tr1 cells and inhibition of TH17 cells by IL-27. *Semin. Immunol.* 23, 438–445.
- Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, and Ridker PM (2001). C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 286, 327–334.
- Qian, W.-J., Aspinwall, C.A., Battiste, M.A., and Kennedy, R.T. (2000). Detection of Secretion from Single Pancreatic β -Cells Using Extracellular Fluorogenic Reactions and Confocal Fluorescence Microscopy. *Anal. Chem.* 72, 711–717.

- Radaelli, T., Varastehpour, A., Catalano, P., and Mouzon, S.H. (2003). Gestational Diabetes Induces Placental Genes for Chronic Stress and Inflammatory Pathways. *Diabetes* 52, 2951–2958.
- Radaeva, S., Sun, R., Pan, H., Hong, F., and Gao, B. (2004). Interleukin 22 (IL-22) plays a protective role in T cell-mediated murine hepatitis: IL-22 is a survival factor for hepatocytes via STAT3 activation. *Hepatology* 39, 1332–1342.
- Rajala, M.W., Qi, Y., Patel, H.R., Takahashi, N., Banerjee, R., Pajvani, U.B., Sinha, M.K., Gingerich, R.L., Scherer, P.E., and Ahima, R.S. (2004). Regulation of resistin expression and circulating levels in obesity, diabetes, and fasting. *Diabetes* 53, 1671–1679.
- Reece, E.A., Pinter, E., Leranth, C.Z., Garcia-Segura, M., Sanyal, M.K., Hobbins, J.C., Mahoney, M.J., and Naftolin, F. (1985). Ultrastructural analysis of malformations of the embryonic neural axis induced by in vitro hyperglycemic conditions. *Teratology* 32, 363–373.
- Reetz, A., Solimena, M., Matteoli, M., Folli, F., Takei, K., and De Camilli, P. (1991). GABA and pancreatic beta-cells: colocalization of glutamic acid decarboxylase (GAD) and GABA with synaptic-like microvesicles suggests their role in GABA storage and secretion. *EMBO J.* 10, 1275–1284.
- Retnakaran, R., Hanley, A.J.G., Raif, N., Connelly, P.W., Sermer, M., and Zinman, B. (2003). C-Reactive Protein and Gestational Diabetes: The Central Role of Maternal Obesity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88, 3507–3512.
- Retnakaran, R., Qi, Y., Sermer, M., Connelly, P.W., Hanley, A.J.G., and Zinman, B. (2008). Glucose Intolerance in Pregnancy and Future Risk of Pre-Diabetes or Diabetes. *Diabetes Care* 31, 2026–2031.
- Reynolds, R.M., Allan, K.M., Raja, E.A., Bhattacharya, S., McNeill, G., Hannaford, P.C., Sarwar, N., Lee, A.J., Bhattacharya, S., and Norman, J.E. (2013). Maternal obesity during pregnancy and premature mortality from cardiovascular event in adult offspring: follow-up of 1 323 275 person years. *BMJ* 347, f4539.
- Ridker, P.M., Hennekens, C.H., Buring, J.E., and Rifai, N. (2000). C-Reactive Protein and Other Markers of Inflammation in the Prediction of Cardiovascular Disease in Women. *N. Engl. J. Med.* 342, 836–843.
- Riley, W.J., Maclaren, N.K., Krischer, J., Spillar, R.P., Silverstein, J.H., Schatz, D.A., Schwartz, S., Malone, J., Shah, S., and Vadheim, C. (1990). A prospective study of the development of diabetes in relatives of patients with insulin-dependent diabetes. *N. Engl. J. Med.* 323, 1167–1172.
- Rogowicz-Frontczak, A., Zozulińska-Ziołkiewicz, D., Litwinowicz, M., Niedźwiecki, P., Wyka, K., and Wierusz-Wysocka, B. (2014). Are zinc transporter type 8 antibodies a marker of autoimmune thyroiditis in non-obese adults with new-onset diabetes? *Eur. J. Endocrinol. Eur. Fed. Endocr. Soc.* 170, 651–658.
- Romero, R., Avila, C., Santhanam, U., and Sehgal, P.B. (1990). Amniotic fluid interleukin 6 in preterm labor. Association with infection. *J. Clin. Invest.* 85, 1392–1400.
- Rubenstein, A.H., Block, M.B., Starr, J., Melani, F., and Steiner, D.F. (1972). Proinsulin and C-Peptide in Blood. *Diabetes* 21, 661–672.
- Rubinstein, P., Walker, M., Krassner, J., Carrier, C., Carpenter, C., Dobersen, M.J., Notkins, A.L., Mark, E.M., Nechemias, C., Hausknecht, R.U., et al. (1981). HLA antigens and islet cell antibodies in gestational diabetes. *Hum. Immunol.* 3, 271–275.
- Ruffilli, I., Ferrari, S.M., Colaci, M., Ferri, C., Fallahi, P., and Antonelli, A. (2014). IP-10 in autoimmune thyroiditis. *Horm. Metab. Res. Horm. Stoffwechselforschung Horm. Métabolisme* 46, 597–602.

- Saito, S. (2000). Cytokine network at the feto-maternal interface. *J. Reprod. Immunol.* 47, 87–103.
- Samad, F., Yamamoto, K., Pandey, M., and Loskutoff, D.J. (1997). Elevated expression of transforming growth factor-beta in adipose tissue from obese mice. *Mol. Med.* 3, 37–48.
- Samad, F., Uysal, K.T., Wiesbrock, S.M., Pandey, M., Hotamisligil, G.S., and Loskutoff, D.J. (1999). Tumor necrosis factor α is a key component in the obesity-linked elevation of plasminogen activator inhibitor 1. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96, 6902–6907.
- Santos-Alvarez, J., Goberna, R., and Sánchez-Margalet, V. (1999). Human Leptin Stimulates Proliferation and Activation of Human Circulating Monocytes. *Cell. Immunol.* 194, 6–11.
- Sartipy, P., and Loskutoff, D.J. (2003). Monocyte chemoattractant protein 1 in obesity and insulin resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100, 7265–7270.
- SA Tartu Ülikooli Kliinikum (2012). Ühendlabori käsiraamat IV (Tartu Ülikooli Kliinikumi ühendlabor).
- Schoenaker, D.A., Mishra, G.D., Callaway, L.K., and Soedamah-Muthu, S.S. (2016). The role of energy, nutrients, foods, and dietary patterns in the development of gestational diabetes mellitus: a systematic review of observational studies. *Diabetes Care* 39, 16–23.
- Seve, M., Chimienti, F., Devergnas, S., and Favier, A. (2004). In silico identification and expression of SLC30 family genes: An expressed sequence tag data mining strategy for the characterization of zinc transporters' tissue expression. *BMC Genomics* 5, 32.
- Shaw, J.E., Sicree, R.A., and Zimmet, P.Z. (2010). Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 87, 4–14.
- Shimomura, I., Funahashi, T., Takahashi, M., Maeda, K., Kotani, K., Nakamura, T., Yamashita, S., Miura, M., Fukuda, Y., Takemura, K., et al. (1996). Enhanced expression of PAI-1 in visceral fat: Possible contributor to vascular disease in obesity. *Nat. Med.* 2, 800–803.
- Silverman, B.L., Metzger, B.E., Cho, N.H., and Loeb, C.A. (1995). Impaired Glucose Tolerance in Adolescent Offspring of Diabetic Mothers: Relationship to fetal hyperinsulinism. *Diabetes Care* 18, 611–617.
- Simeoni, E., Hoffmann, M.M., Winkelmann, B.R., Ruiz, J., Fleury, S., Boehm, B.O., März, W., and Vassalli, G. (2004). Association between the A-2518G polymorphism in the monocyte chemoattractant protein-1 gene and insulin resistance and Type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia* 47, 1574–1580.
- Solimena, M., Folli, F., Denis-Donini, S., Comi, G.C., Pozza, G., De Camilli, P., and Vicari, A.M. (1988). Autoantibodies to Glutamic Acid Decarboxylase in a Patient with Stiff-Man Syndrome, Epilepsy, and Type I Diabetes Mellitus. *N. Engl. J. Med.* 318, 1012–1020.
- Solimena, M., Dirks, R., Hermel, J.M., Pleasic-Williams, S., Shapiro, J.A., Caron, L., and Rabin, D.U. (1996). ICA 512, an autoantigen of type I diabetes, is an intrinsic membrane protein of neurosecretory granules. *EMBO J.* 15, 2102–2114.
- Spranger, J., Kroke, A., Möhlig, M., Bergmann, M.M., Ristow, M., Boeing, H., and Pfeiffer, A.F. (2003). Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus. *The Lancet* 361, 226–228.
- Stagnaro-Green, A., Wiersinga, W., Alexander, E., Azizi, F., Mestman, J., Negro, R., Nixon, A., Pearce, E.N., Soldin, O.P., Sullivan, S., et al. (2011). Guidelines of the American Thyroid Association for the Diagnosis and Management of Thyroid Disease During Pregnancy and Postpartum. *Thyroid* 21, 1081–1125.

- Strengell, M., Matikainen, S., Sirén, J., Lehtonen, A., Foster, D., Julkunen, I., and Sareneva, T. (2003). IL-21 in synergy with IL-15 or IL-18 enhances IFN-gamma production in human NK and T cells. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* *170*, 5464–5469.
- Strieter, R.M., Polverini, P.J., Kunkel, S.L., Arenberg, D.A., Burdick, M.D., Kasper, J., Dzuiba, J., Damme, J.V., Walz, A., Marriott, D., et al. (1995). The Functional Role of the ELR Motif in CXC Chemokine-mediated Angiogenesis. *J. Biol. Chem.* *270*, 27348–27357.
- Sunehag, A., Berne, C., Lindmark, G., and Ewald, U. (1991). Gestational Diabetes-perinatal Outcome with a Policy of Liberal and Intensive Insulin Therapy. *Ups. J. Med. Sci.* *96*, 185–198.
- Sutherland, A.P.R., Van Belle, T., Wurster, A.L., Suto, A., Michaud, M., Zhang, D., Grusby, M.J., and von Herrath, M. (2009). Interleukin-21 Is Required for the Development of Type 1 Diabetes in NOD Mice. *Diabetes* *58*, 1144–1155.
- Takahashi, K., Mizuarai, S., Araki, H., Mashiko, S., Ishihara, A., Kanatani, A., Itadani, H., and Kotani, H. (2003). Adiposity Elevates Plasma MCP-1 Levels Leading to the Increased CD11b-positive Monocytes in Mice. *J. Biol. Chem.* *278*, 46654–46660.
- Taub, D.D., Conlon, K., Lloyd, A.R., Oppenheim, J.J., and Kelvin, D.J. (1993). Preferential migration of activated CD4+ and CD8+ T cells in response to MIP-1 alpha and MIP-1 beta. *Science* *260*, 355–358.
- Taylor, A.W., Ku, N.O., and Mortensen, R.F. (1990). Regulation of cytokine-induced human C-reactive protein production by transforming growth factor-beta. *J. Immunol.* *145*, 2507–2513.
- Temelkova-Kurktschiev, T., Siegert, G., Bergmann, S., Henkel, E., Koehler, C., Jaro[szlig], W., and Hanefeld, M. (2002). Subclinical inflammation is strongly related to insulin resistance but not to impaired insulin secretion in a high risk population for diabetes. *Metabolism* *51*, 743–749.
- Teramo, K.A. (2010). Obstetric problems in diabetic pregnancy – The role of fetal hypoxia. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* *24*, 663–671.
- Thomson, A.J., Telfer, J.F., Young, A., Campbell, S., Stewart, C.J.R., Cameron, I.T., Greer, I.A., and Norman, J.E. (1999). Leukocytes infiltrate the myometrium during human parturition: further evidence that labour is an inflammatory process. *Hum. Reprod.* *14*, 229–236.
- Tillakaratne, N.J., Medina-Kauwe, L., and Gibson, K.M. (1995). gamma-Aminobutyric acid (GABA) metabolism in mammalian neural and nonneural tissues. *Comp. Biochem. Physiol. A Physiol.* *112*, 247–263.
- Törn, C., Gupta, M., Sanjeevi, C.B., Åberg, A., Frid, A., and Landin-Olsson, M. (2004). Different HLA-DR-DQ and MHC class I chain-related gene A (MICA) genotypes in autoimmune and nonautoimmune gestational diabetes in a Swedish population. *Hum. Immunol.* *65*, 1443–1450.
- Trabucchi, A., Faccinetti, N.I., Guerra, L.L., Puchulu, F.M., Frechtel, G.D., Poskus, E., and Valdez, S.N. (2012). Detection and characterization of ZnT8 autoantibodies could help to screen latent autoimmune diabetes in adult-onset patients with type 2 phenotype. *Autoimmunity* *45*, 137–142.
- Turner, R., Stratton, I., Horton, V., Manley, S., Zimmet, P., Mackay, I.R., Shattock, M., Bottazzo, G.F., and Holman, R. (1997). UKPDS 25: autoantibodies to islet-cell cytoplasm and glutamic acid decarboxylase for prediction of insulin requirement in type 2 diabetes. *The Lancet* *350*, 1288–1293.
- Unwin, N., Zimmet, P., Alberti, K.G.M.M., and Shaw, J. (2002). Impaired glucose tolerance and impaired fasting glycaemia: the current status on definition and intervention. *Diabet. Med.* *19*, 708–723.

- Urashima, M., Chauhan, D., Hatziyanni, M., Ogata, A., Hollenbaugh, D., Aruffo, A., and Anderson, K.C. (1996). CD40 ligand triggers interleukin-6 mediated B cell differentiation. *Leuk. Res.* 20, 507–515.
- Vaas, P., Rull, K., Pöllumaa, S., Klaar, U., and Kirss, A. (2011). Eesti Naistearstide Seltsi ravijuhend, versioon 4. Raseduse jälgimise juhend. Raseduse Jälgimise Juhend.
- Vandewalle, C.L., Falorni, A., Svanholm, S., Lernmark, A., Pipeleers, D.G., and Gorus, F.K. (1995). High diagnostic sensitivity of glutamate decarboxylase autoantibodies in insulin-dependent diabetes mellitus with clinical onset between age 20 and 40 years. The Belgian Diabetes Registry. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 80, 846–851.
- Vandewalle, C.L., Falorni, A., Lernmark, Å., Goubert, P., Dorchy, H., Coucke, W., Semakula, C., Auwera, B.V.D., Kaufman, L., Schuit, F.C., et al. (1997). Associations of GAD65- and IA-2-Autoantibodies With Genetic Risk Markers in New-Onset IDDM Patients and Their Siblings. The Belgian Diabetes Registry. *Diabetes Care* 20, 1547–1552.
- Vassiliadis, S., Ranella, A., Papadimitriou, L., Makrygiannakis, A., and Athanassakis, I. (1998). Serum levels of pro- and anti-inflammatory cytokines in non-pregnant women, during pregnancy, labour and abortion. *Mediators Inflamm.* 7, 69–72.
- Verge, C.F., Gianani, R., Kawasaki, E., Yu, L., Pietropaolo, M., Chase, H.P., Eisenbarth, G.S., and Jackson, R.A. (1996). Prediction of Type I Diabetes in First-Degree Relatives Using a Combination of Insulin, GAD, and ICA512bdc/IA-2 Autoantibodies. *Diabetes* 45, 926–933.
- Vianello, M., Keir, G., Giometto, B., Betterle, C., Tavalato, B., and Thompson, E.J. (2005). Antigenic differences between neurological and diabetic patients with anti-glutamic acid decarboxylase antibodies. *Eur. J. Neurol.* 12, 294–299.
- Wang, R., Han, G., Wang, J., Chen, G., Xu, R., Wang, L., Li, X., Shen, B., and Li, Y. (2008). The pathogenic role of interleukin-27 in autoimmune diabetes. *Cell. Mol. Life Sci.* 65, 3851–3860.
- Wang, X., Ota, N., Manzanillo, P., Kates, L., Zavala-Solorio, J., Eidenschenk, C., Zhang, J., Lesch, J., Lee, W.P., Ross, J., et al. (2014). Interleukin-22 alleviates metabolic disorders and restores mucosal immunity in diabetes. *Nature* 514, 237–241.
- Wareham, N.J., Byrne, C.D., Williams, R., Day, N.E., and Hales, C.N. (1999). Fasting proinsulin concentrations predict the development of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 22, 262–270.
- Wenzlau, J.M., Juhl, K., Yu, L., Moua, O., Sarkar, S.A., Gottlieb, P., Rewers, M., Eisenbarth, G.S., Jensen, J., Davidson, H.W., et al. (2007). The cation efflux transporter ZnT8 (Slc30A8) is a major autoantigen in human type 1 diabetes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104, 17040–17045.
- Werner, S.C., Ingbar, S.H., Braverman, L.E., and Utiger, R.D. (2005). *Werner & Ingbar's the Thyroid: A Fundamental and Clinical Text* (Lippincott Williams & Wilkins).
- Whitman, S.C., Argmann, C.A., Sawyez, C.G., Miller, D.B., Hegele, R.A., and Huff, M.W. (1999). Uptake of type IV hypertriglyceridemic VLDL by cultured macrophages is enhanced by interferon- γ . *J. Lipid Res.* 40, 1017–1028.
- Whittingham, S., Byron, S. I., Tuomilehto, J., Zimmet, P. z., Myers, M. a., Vidgren, G., Rowley, M. j., Feeney, S. j., Koskela, P., Tuomilehto-Wolf, E., et al. (1997). Autoantibodies associated with presymptomatic insulin-dependent diabetes mellitus in women. *Diabet. Med.* 14, 678–685.
- Wolf, M., Sandler, L., Hsu, K., Vossen-Smirnakis, K., Ecker, J.L., and Thadhani, R. (2003). First-Trimester C-Reactive Protein and Subsequent Gestational Diabetes. *Diabetes Care* 26, 819–824.

- Wolk, K., Kunz, S., Witte, E., Friedrich, M., Asadullah, K., and Sabat, R. (2004). IL-22 Increases the Innate Immunity of Tissues. *Immunity* 21, 241–254.
- Wood, I.S., and Trayhurn, P. (2003). Glucose transporters (GLUT and SGLT): expanded families of sugar transport proteins. *Br. J. Nutr.* 89, 3–9.
- Yoon, J.-W., and Jun, H.-S. (2005). Autoimmune destruction of pancreatic beta cells. *Am. J. Ther.* 12, 580–591.
- Yu, S.H., Park, S., Kim, H.-S., Park, S.-Y., Yim, C.H., Han, K.O., Yoon, H.K., Jang, H.C., Chung, H.Y., and Kim, S.-H. (2009). The prevalence of GAD antibodies in Korean women with gestational diabetes mellitus and their clinical characteristics during and after pregnancy. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 25, 329–334.
- Yudkin, J.S., Stehouwer, C.D.A., Emeis, J.J., and Coppack, S.W. (1999). C-Reactive Protein in Healthy Subjects: Associations With Obesity, Insulin Resistance, and Endothelial Dysfunction A Potential Role for Cytokines Originating From Adipose Tissue? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 19, 972–978.
- Zalewski, P.D., Millard, S.H., Forbes, I.J., Kapaniris, O., Slavotinek, A., Betts, W.H., Ward, A.D., Lincoln, S.F., and Mahadevan, I. (1994). Video image analysis of labile zinc in viable pancreatic islet cells using a specific fluorescent probe for zinc. *J. Histochem. Cytochem.* 42, 877–884.
- Zhang, C., Tobias, D.K., Chavarro, J.E., Bao, W., Wang, D., Ley, S.H., and Hu, F.B. (2014). Adherence to healthy lifestyle and risk of gestational diabetes mellitus: prospective cohort study. *BMJ* 349, g5450.
- Zupping, E.-K., Tammemäe, L., Karro, H., and Klaar, U. (2006). “Raseda jälgimise juhend” (version 3).

LISA 1. Lihtlitsents

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina Kristine Roos (sünnikuupäev: 15.03.1992),

1. Annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose

Gestatsioondiabeet sisaldab endas vähemalt kahte tüüpi haigust – autoimmuunset ning insuliinresistentsusel põhinevat diabeeti,

mille juhendajad on Kadri Haller-Kikkatalo ja prof. Andres Metspalu,

- 1.1.reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;
- 1.2.üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.
2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, 26.05.2016